

**UNIVERSIDAD DE LLEIDA  
FACULTAD DE MEDICINA  
GRADO EN NUTRICIÓN HUMANA Y  
DIETÉTICA**

**ANÁLISIS COMPARATIVO DE COMPUESTOS  
BIOACTIVOS EN CERVEZA ARTESANAL Y CERVEZA  
INDUSTRIAL**

---

**AUTOR: ANNABEL MARTÍNEZ MUÑOZ**



**CURSO 2014/2015**

**ANÁLISIS COMPARATIVO DE COMPUESTOS  
BIOACTIVOS EN CERVEZA ARTESANAL Y CERVEZA  
INDUSTRIAL**

TRABAJO DE FINAL DE GRADO PRESENTADO POR:

ANNABEL MARTÍNEZ MUÑOZ

TUTOR: JOSÉ SERRANO CASASOLA

# ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>RESUM</b> .....	8
<b>ABSTRACT</b> .....	9
<b>1. ANTECEDENTES</b> .....	10
1.1 Historia.....	10
1.2 Definición .....	10
1.3 Tipos de cervezas .....	11
1.4 Diferencias entre una cerveza artesanal y una cerveza industrial.....	12
1.5 Materias primas.....	13
1.6 Procesamiento .....	15
1.7 Variables de elaboración .....	17
1.8 Compuestos de la cerveza.....	18
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b> .....	21
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	22
3.1 Objetivo general.....	22
3.2 Objetivos específicos .....	22
<b>4. METODOLOGÍA</b> .....	23
4.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS .....	23
4.1.1 Muestras de cervezas artesanales .....	23
4.2.2 Muestras de cervezas industriales .....	27
4.2 MÉTODOS .....	29
4.2.1 Proteína.....	29
4.2.2 Fibra.....	30
4.2.3 Fenoles totales .....	31
4.2.4. Capacidad antioxidante .....	32
4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	32
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSSION</b> .....	33
5.1 DIFERENCIAS DE COMPOSICIÓN ENTRE LAS MUESTRAS .....	33
5.1.1 Contenido de proteína .....	33
5.1.2 Contenido de fibra .....	37
5.1.3. Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante.....	40

5.2 EFECTO DE LAS VARIABLES DE ELABORACIÓN EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS .....	46
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	50
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	52

## ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICAS

<b>FIGURA 1.</b> Diagramas de flujo de una cerveza industrial y una cerveza artesanal.....	11
<b>TABLA 1.</b> Composición química aproximada de una cerveza común. ....	19
<b>TABLA 2.</b> Características y variables de elaboración de cada muestra de cerveza artesanal	26
<b>TABLA 3.</b> Características y variables de elaboración de cada muestra de cerveza industrial .....	29
<b>TABLA 4.</b> Reactivos y enzimas usados en la cuantificación de fibra. ....	30
<b>TABLA 5.</b> Grado de correlación significativa de las variables de elaboración que mostraron una relación con los compuestos bioactivos analizados.....	46
<b>GRÁFICA 1.</b> Contenido de proteína en las distintas muestras de cervezas artesanales, expresado en mg/mL de muestra. ....	34
<b>GRÁFICA 2.</b> Contenido de proteína en las distintas muestras de cervezas industriales, expresado en mg/mL de muestra. ....	35
<b>GRÁFICA 3.</b> Media del contenido de proteína en las muestras de cervezas artesanales e industriales, expresado en mg/mL de muestra. ....	36
<b>GRÁFICA 4.</b> Contenido de fibra en las distintas muestras de cervezas artesanales, expresado en mg/mL de muestra.....	37
<b>GRÁFICA 5.</b> Contenido de fibra en las distintas muestras de cervezas industriales, expresado en mg/mL de muestra. ....	38
<b>GRÁFICA 6.</b> Media del contenido de fibra de las muestras de cervezas artesanales e industriales, expresado en mg/mL de muestra. ....	39
<b>GRÁFICA 7.</b> Contenido de fenoles totales en las distintas muestras de cervezas artesanales, expresado en mg/L de muestra. ....	41
<b>GRÁFICA 8.</b> Capacidad antioxidante en las distintas muestras de cervezas artesanales, expresado en $\mu$ M de Trolox.....	41
<b>GRÁFICA 9.</b> Contenido de fenoles totales en las distintas muestras de cervezas industriales, expresado en mg/L de muestra.....	42
<b>GRÁFICA 10.</b> Capacidad antioxidante total de cervezas industriales, expresado en $\mu$ M de Trolox. ....	43
<b>GRÁFICA 11.</b> Media del contenido de fenoles totales en las muestras de cervezas	

artesanales e industriales, expresado en mg/L de muestra. ....	45
<b>GRÁFICA 12.</b> Media de la capacidad antioxidante en las muestras de cerveza artesanal e industrial, expresado en $\mu\text{M}$ de Trolox.....	45
<b>GRÁFICA 13.</b> Relación inversamente proporcional entre la densidad inicial y el contenido de proteína de las cervezas. ....	47
<b>GRÁFICA 14.</b> Relación proporcional entre la densidad final y el contenido de fibra de las cervezas. ....	48
<b>GRÁFICA 15.</b> Relación proporcional entre los grados de amargor y el contenido en fenoles totales. ....	49
<b>GRÁFICA 16.</b> Relación proporcional entre los grados de amargor y la capacidad antioxidante de las cervezas. ....	49

## **RESUMEN**

La cerveza es una de las bebidas más consumidas en todo el mundo. La producción y consumo de cerveza artesanal presenta una tendencia alcista, intentando recuperar la tradición en la elaboración, mientras que la cerveza industrial está asociada a buscar una mayor producción, pudiendo comprometer la calidad del producto final. Es por ello que se analizó la cantidad de proteína, fibra, fenoles totales y capacidad antioxidante en distintos tipos de cervezas artesanales e industriales para establecer una comparación cuantitativa y relacionarlos con las materias primas que se utilizan, procesos de elaboración y distintas variables que influyen durante el procesado. Se obtuvo una mayor cantidad de compuestos bioactivos en las muestras de cerveza artesanal que en las de cerveza industrial. Estas diferencias se atribuyen a las materias primas y a las diferentes etapas del procesado. En este sentido, algunas cervezas artesanas aportan hasta un 26% de las recomendaciones de fibra y un 5% y un 13% de la ingesta total de fenoles y capacidad antioxidante de la dieta española. En relación a las variables de elaboración, a mayor densidad inicial, se obtienen cervezas con un mayor contenido en proteína, mientras que a mayor densidad final, el contenido en fibra aumenta y, a mayores grados de amargor, se obtienen cervezas con mayor contenido en fenoles totales y capacidad antioxidante.

## **RESUM**

La cervesa es una de les begudes més consumides arreu del món. La producció i consum de cervesa artesana presenta una tendència alcista, intentant recuperar la tradició en l'elaboració, mentre que la cervesa industrial està associada a buscar una major producció, podent comprometre la qualitat del producte final. Per aquest motiu, es va analitzar la quantitat de proteïna, fibra, fenols totals i la capacitat antioxidant, en diferents tipus de cerveses artesanes i industrials, per tal d'establir una comparació quantitativa i relacionar-los amb les matèries primes que s'utilitzen, amb els processos d'elaboració i amb diverses variables que influeixen durant el processat.

Es va obtenir una major quantitat de compostos bioactius en les mostres de cervesa artesana que en les mostres de cervesa industrial. Aquestes diferències s'atribueixen a les matèries primes i a les diferents etapes del processat. En aquest sentit, algunes cerveses artesanes, proporcionen fins a un 26% de les recomanacions de fibra i un 5% i un 13% de la ingesta total de fenols i capacitat antioxidant de la dieta espanyola. En relació a les variables d'elaboració, a major densitat final, s'obtenen cerveses amb una major quantitat de proteïna, mentre que a major densitat final, el contingut en fibra augmenta i, a majors graus d'amargor, s'obtenen cerveses amb un major contingut en fenols i capacitat antioxidant.



## **ABSTRACT**

Beer is one of the most consumed drinks in the world. Both production and consumption of crafted beer show an upward trend, trying to recover the brewing tradition, whilst the industrially produced beer is aiming at a bigger production, thus ensuring the quality of the final product. This is why the quantity of protein, fiber, total phenols and antioxidant capacity were calculated for different types of both crafted and industrial beers, in order to establish a quantitative comparison and to be able to relate them to the raw ingredients which have been used, the production process and other different variables which influence during the process. A larger quantity of bioactive compounds has been obtained from the craft beer samples than from the industrially produced ones. The differences are attributed to aforementioned raw ingredients and also to the different stages of the production process. In this regard, some craft beers provide up to 26% of the recommended fiber and 5% and 13% of the total phenol ingestion and antioxidant capacity of the Spanish diet. Regarding the production variables, the larger the initial density, the bigger the protein count is, whilst the larger the final density, the fiber content rises and, the bigger bitterness levels, the larger phenol content and antioxidant capacity beers are produced.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 Historia

La cerveza fue producida por primera vez por los sumerios en el sur de Babilonia a finales del 4.000 a.C. La cerveza fue uno de los alimentos más importantes de la dieta de dicha sociedad, usándose como moneda de cambio en distintas transacciones.

Civilizaciones como los babilonios y los egipcios, heredaron el arte de elaborar cerveza y le dieron otras utilidades. Los babilonios la utilizaban como sustancia protectora para evitar el contagio de la peste, mientras que los egipcios fueron perfeccionando las técnicas de elaboración, aumentando el grado alcohólico para que la cerveza resistiese la venta ambulante (1).

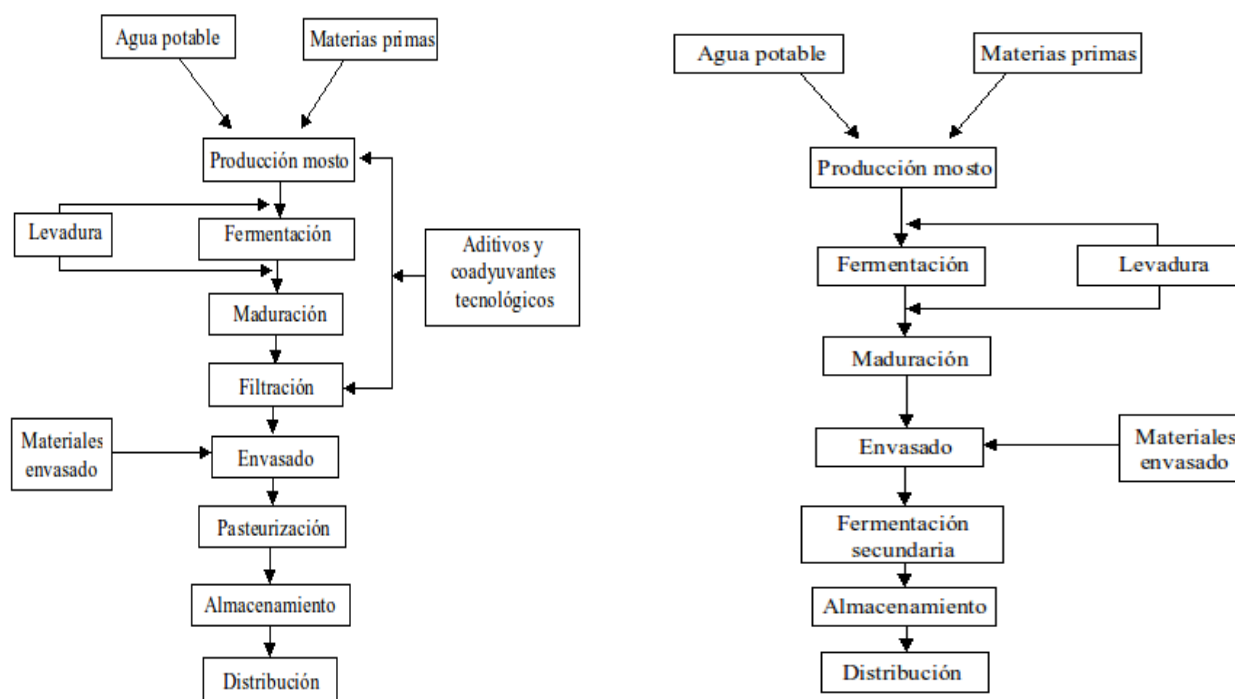
Con la llegada de la religión cristiana, la fabricación de cerveza pasó a los monasterios. Disponían de información sobre técnicas ancestrales de elaboración y controlaban el mercado de plantas aromáticas. En el siglo XII, la cerveza llegó a las ciudades de la mano de los señores feudales, con el fin de comercializar con ella y usando el lúpulo como aromatizante. Con ellos, apareció la *Ley de Pureza de Baviera* (2), en la que se recogen los reglamentos para la fabricación de cerveza, así como del personal que podía intervenir, dejando de lado a los monasterios (1).

La revolución industrial provocó un avance de la tecnología utilizada, aumentando la eficiencia y el mercado. Con el descubrimiento de la levadura en 1876 por *Luis Pasteur*, junto con el uso de la pasteurización, disminuyeron enormemente las infecciones microbianas de la cerveza, evitando las pérdidas (1).

### 1.2 Definición

Según el BOE, la cerveza industrial es una bebida fruto de una fermentación alcohólica. Se fabrica mediante el uso de agua, levaduras seleccionadas, de un mosto procedente de malta de cebada, sólo o mezclado con otros productos amiláceos transformables en azúcares por digestión enzimática, lúpulo y/o sus derivados y aditivos y coadyuvantes tecnológicos, sometidos a un proceso de filtración y pasteurización. En la cerveza artesanal, en cambio, no se añaden aditivos ni coadyuvantes tecnológicos y no se somete a procesos de filtración ni pasteurización, sufriendo una fermentación secundaria en botella (1,3).

Las diferencias que existen entre las cervezas industriales y las artesanales, en cuanto a procesos de elaboración, se ilustran en la Figura 1.



**FIGURA 1.** Diagramas de flujo de una cerveza industrial y una cerveza artesanal. Sus diferencias recaen en el proceso de filtrado y pasteurización, a la adición de aditivos y coadyuvantes y a la fermentación secundaria en botella.

### 1.3 Tipos de cervezas

Las cervezas se clasifican en tres grandes estilos según su fermentación y, por tanto, por las cepas de levaduras que intervienen. Se denominan *Ale*, *Lager* o *Lámbricas*. (1)

Las levaduras que dan origen a cervezas de estilo *ale* son del género *S. cerviciare*. Se denominan levaduras de fermentación alta porque suben a la superficie del tanque al final de la fermentación y realizan su actividad entre 14-25°C. Este estilo es originario de Gran Bretaña, Alemania y Bélgica. En Gran Bretaña encontramos los estilos *Ale*, *Stout* y *Porter*; en Bélgica el estilo *Trapista*, y en Alemania los estilos *Weissbier*, *Weizenbier*, *Altbier* y

*Kölsch*. Las levaduras que dan origen a cervezas de estilo *lager* son del género *S. carlsbergensis* o *S. uvarum*. Se designan de fermentación baja porque se depositan en el fondo del tanque en las etapas finales de la fermentación, realizando su actividad entre 4-12°C. En este estilo se encuentran los estilos *Pilsener* o *Pils*, *Münchener*, *Dortmunder*, *Viena* (*Oktoberfest* o *Märzen*) y *Dry* (también llamadas *light*). Las levaduras que dan origen a cervezas de estilo *lámbricas* son las llamadas levaduras “silvestres”, ya que no se usan levaduras altas o bajas, sino que se usan levaduras que hay presentes en el ambiente, dejando los fermentadores abiertos y produciendo una fermentación espontánea a temperaturas inferiores de 15°C. Son originarias de Bélgica y son propios los estilos *Lambic*, *Gueuze* y *Krieken-Lambic* (1, 5,6).

## **1.4 Diferencias entre una cerveza artesanal y una cerveza industrial**

Todas las cervezas se elaboran con cuatro ingredientes básicos, agua, levadura, lúpulo y malta de cebada u otros cereales. No obstante, existen diferencias entre una cerveza artesana y una industrial. Estas residen en la tecnología utilizada, la calidad de las materias primas, la receta del maestro cervecero y sobretodo, en los procesos de elaboración. Las cervezas industriales se producen en base a una fórmula básica que busca ingredientes y procesos económicamente viables, para ello se utilizan equipos de grandes dimensiones, que producen cerveza a gran escala en menor tiempo. La cerveza artesana es modificada cuantas veces sea necesario por el maestro cervecero para dar con un sabor y un aroma característico, utilizando equipos más tradicionales que permiten un trato más lento y atento (4).

En cuanto a los ingredientes, la cerveza artesana solo se elabora con productos naturales y nada diferentes de agua, malta de cebada, trigo o centeno, lúpulo y levadura. Se elabora en pequeñas cantidades para evitar almacenamientos prolongados ya que no se añaden aditivos ni coadyuvantes tecnológicos. La cerveza industrial se elabora con agua, lúpulo, levadura y malta de cebada junto con otros cereales más económicos como el arroz, incluso se añaden azúcares sintéticos o jarabes para acelerar el proceso fermentativo. Además se añaden aditivos y coadyuvantes en los procesos de producción del mosto y después de la filtración, como colorantes, antioxidantes, estabilizantes, filtrantes y clarificantes, y preparados enzimáticos (3, 4,6).

En el procesado de las cervezas artesanales e industriales, existen algunas diferencias importantes. Por ejemplo, las cervezas artesanales no se pasteurizan, de modo que los aromas y sabores propios de la receta utilizada se conservan, así como la vida de la levadura que sigue produciendo modificaciones (vida útil corta). Tampoco sufren un proceso de filtrado, por lo que no se eliminan partículas en suspensión y se obtienen cervezas más turbias. Al no realizarse estos dos procesos, sufren una segunda fermentación en la botella, ya que la levadura sigue teniendo sustrato que fermentar. Con esto se consigue saturar a la cerveza de gas carbónico y etanol, originando cervezas fuertes con una graduación alcohólica normalmente superior a las cervezas industriales.

A las cervezas industriales se les realiza una pasteurización, lo que garantiza una vida útil más larga, pero hace que se pierdan características organolépticas de la cerveza, además de eliminar las levaduras, por lo que no se producen modificaciones químicas. Sufren un proceso de filtrado, de modo que se eliminan todos los microorganismos y partículas en suspensión, originando cervezas más claras. Con estos procesos, es poco probable que se produzca una segunda fermentación en botella, ya que no existen levaduras que puedan seguir fermentando. La generación de gas carbónico es débil, por lo que se debe inyectar de forma artificial. La producción de etanol reside en la cantidad de azúcar que contiene la cebada o en los añadidos (1, 4,6).

## **1.5 Materias primas**

La cerveza está elaborada con cuatro elementos básicos: agua, malta de cebada con o sin aditivos de otros carbohidratos, lúpulo y levadura.

El 95% del peso de la cerveza es agua. Para la elaboración de la cerveza, hay que tener en cuenta la presencia de iones calcio, magnesio y bicarbonato del agua (6). El bicarbonato hace elevar el pH cuando hierve el mosto; los iones calcio interaccionan con el ácido fosfórico que contiene la malta, éste precipita y disminuye el pH del mosto, obteniéndose cervezas menos astringentes y menos coloreadas, mientras que el magnesio también reduce en menor grado el pH debido a su solubilidad. Un desajuste en el pH provocaría, entre otras cosas, una sacarificación peor, un rendimiento más débil, el amargor del lúpulo sería más agrio y las cervezas serían más sensibles al desarrollo de fermentos lácticos. En una cantidad adecuada de iones calcio, las levaduras flocculan mejor, favoreciendo la clarificación del mosto y de la cerveza. También eliminan el exceso de oxalato durante el almacenamiento,

que podría originar turbidez (1,6).

La cebada es el cereal que más se utiliza debido a que produce menos problemas técnicos. Botánicamente, la cebada es una planta perteneciente a la familia de las Gramíneas, del género *Hordeum* del que existen varias especies. La parte importante en cervecería es el grano. Son redondeados y gruesos, tienen una cascarilla fina y rizada y su color es amarillo claro, síntoma de buena maduración en condiciones secas. Contiene proteínas, compuestos fenólicos, fosfatos, vitaminas y, sobretodo, almidón. Del almidón se obtiene el extracto cervecero, que durante el procesado se transforma en azúcar por acción de las enzimas fosforilasa,  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ - y  $\beta$ -amilasa (1). Es necesario que los granos sean grandes, sanos, que no estén partidos, sin pre-germinación y sin moho u otras infecciones para obtener un buen producto final. Entre otros granos, el maíz normalmente no se maltea porque su grasa se enrancia y el trigo se usa más comúnmente a escala comercial, pero durante su germinación, se desarrollan ciertos microorganismos, dificultando el proceso. Sin embargo, dependiendo del cervecero o por razones económicas, es común el empleo de adjuntos como arroz, jarabes, sémolas o azúcares de maíz, entre otros (1,7).

El lúpulo o *Humulus lupulus* es una planta de la familia de las Cannabinaceas pero que no posee propiedades alucinógenas. La parte útil de esta planta es el cono femenino, que guarda la glándula lupulina. Estas glándulas contienen todas las resinas y aceites esenciales que proporcionan el amargor y el aroma que necesita el cervecero. Los lúpulos que tienen semilla (fertilizados) contienen más resinas que los lúpulos vírgenes, por lo que el amargor es más intenso cuando se usan lúpulos fertilizados. Los lúpulos vírgenes tienen una relación mayor de aceites, proporcionando a la cerveza características básicamente aromáticas. Para poder ser almacenado, se seca con aire caliente para reducir su contenido en humedad. Es importante evitar el sobrecalentamiento porque causa cambios de coloración y pérdidas de resina. Una vez concluido el secado, los conos se empaquetan a presión elevada para prensar las flores y eliminar el aire, evitando oxidaciones (7,8).

Las levaduras son organismos unicelulares y se reproducen por gemación. En cervecería se usan las pertenecientes al género *Saccharomyces* por su capacidad de fermentar energéticamente en condiciones de anaerobiosis o semianaerobiosis uno o más azúcares produciendo etanol y dióxido de carbono en menor proporción (1). Además de diferenciarse en el tipo de fermentación (alta, baja o espontánea), también presentan un comportamiento de floculación distinto. Las levaduras altas no tienen capacidad de floculación y tienden a ser algo hidrofobias, por lo que suben a la superficie del tanque de fermentación. Las levaduras bajas se diferencian entre floculantes y no floculantes. Las levaduras no

floculantes quedan ampliamente distribuidas y descienden lentamente al final de la fermentación, y las floculantes, se aglomeran formando “flóculos” que descienden rápidamente al final del tanque. Finalmente, las fermentaciones espontáneas, dependen de los microorganismos que entren en contacto con el mosto. La formación de flóculos permiten obtener una cerveza más clara pero no fermentada tan intensamente, mientras que las levaduras no floculantes y las de alta fermentación dan como resultado unas cervezas más turbias pero con un grado de fermentación más alto (9,10).

## **1.6 Procesamiento**

La elaboración de cerveza requiere que la cebada o los cereales que vayan a ser utilizados sean sometidos a un proceso de malteado. El malteado consiste en remojar los granos en agua potable para aumentar su contenido de humedad, con el fin de que germinen. Si el agua es demasiado escasa, los granos desarrollan un embrión débil y, si está en exceso, se produce una desagregación y altas pérdidas en el malteado o la muerte del germen. Después del remojo, es necesario un proceso de secado con aire caliente para frenar la germinación de los granos, aumentando así la actividad de los diferentes enzimas presentes en la cebada. En las etapas finales del secado, el grano se tuesta, produciendo la condensación del grupo amino de las proteínas presentes. La intensidad del secado/tostado depende de la cerveza que se quiera obtener. Finalmente, se produce una desgerminación para eliminar sustancias que perjudicarán al mosto (sabor amargo) y se almacena. En la industria cervecera el proceso de malteado se realiza *in situ*, ya que cuentan con los equipos necesarios para llevarlo a cabo, pero las microcervecerías, carecen de ellos, por lo que es necesario obtener la materia prima ya malteada (1, 7,8)

El primer paso del procesado de la cerveza es la producción del mosto. Se realiza una molienda de la malta para facilitar la extracción el proceso. La extracción se utiliza para obtener un líquido que contenga todas las sustancias solubles necesarias para la producción de la bebida. En este proceso se degradan compuestos nitrogenados, casi totalmente el almidón y los compuestos fenólicos presentes sufren reacciones de oxidación y precipitan junto con proteínas. Para poder obtener un mosto que contenga el máximo posible de extracto y que posea un nivel bajo de turbidez, se realiza un filtrado y un lavado del mosto. Una vez finalizado este proceso, se lleva a cabo una cocción y un lupulado. La cocción se realiza para inactivar y esterilizar el mosto, para la coagulación de proteínas y taninos y formación del color. El lupulado aporta los sabores amargos, mejora y suaviza la espuma de la cerveza y añade aceites esenciales y taninos. Después, se procede a su clarificación,

enfriamiento y aireación. Para disminuir la turbidez del mosto se clarifica mediante distintos procesos como centrifugación o filtración. Una vez clarificado, el mosto debe enfriarse para evitar oxidaciones y sabores indeseables, y ser aireado para que las levaduras puedan tener el suficiente oxígeno para crecer (1).

Es en este período cuando el mosto está listo para que se lleve a cabo la fermentación.

La fermentación alcohólica es el proceso por el cual las levaduras transforman el mosto en alcohol, dióxido de carbono y otros subproductos que contribuyen a las características de la cerveza (8). Durante las primeras fases de la fermentación, el mosto debe contener suficiente oxígeno disuelto para permitir a las levaduras sintetizar los lípidos esenciales para la membrana celular, ya que la falta de oxígeno provoca fermentaciones deficientes (9). Otros factores que pueden afectar a la fermentación son la calidad y el tipo de levadura, dosis de siembra y crecimiento celular, temperatura y equipos usados.

Durante este proceso, a parte de la formación de alcohol y en menor grado CO<sub>2</sub>, se forman otros metabolitos como ésteres, aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos, compuestos azufrados y fenólicos.

Una vez finalizada la fermentación, el producto obtenido no es del todo cerveza, ya que contiene partículas en suspensión, poca carbonatación, sabor inmaduro e inestable microbiológicamente. Para ello, la cerveza se somete a una maduración (guarda o fermentación secundaria) y a un filtrado (solo en el caso de un procesamiento industrial). Durante la maduración, se busca un sabor agradable, saturar la cerveza con dióxido de carbono, madurar la cerveza en ausencia de aire y permitir a las materias en suspensión poder ser eliminadas por decantación. El momento en el que hay que transferir la cerveza a los tanques de maduración, se conoce gracias a la presencia de diacetilo, un compuesto que se origina durante la fermentación principal. Para poder ser transferida, la cerveza requiere unos niveles de diacetilo de <0,1mg/L. El tiempo en el que la cerveza estará madurando, depende del maestro cervecero y de la receta utilizada (8). Después de la maduración, debe realizarse un proceso de filtración para eliminar microorganismos y partículas en suspensión, para conseguir una cerveza limpia y clara, mediante filtración.

Los procesos finales de procesamiento de la cerveza son el envasado (en cervezas artesanas, el proceso final es la segunda fermentación en botella) y la estabilización biológica o pasteurización (sólo en cervezas industriales). Los materiales que se utilizan normalmente para el envasado son el vidrio y el metal, por ser químicamente inertes. La pasteurización se realiza en el mismo envase final aunque también es posible pasteurizar la cerveza y realizar a continuación el envasado, el cual tiene que ser totalmente aséptico. Con esto, se reduce la posibilidad de que existan grandes niveles de microorganismos que puedan alterar el



producto final (1). En las cervezas artesanales, se elimina la pasteurización, de modo que se mantiene la actividad de la levadura, produciéndose una segunda fermentación en la botella.

## 1.7 Variables de elaboración

Para la fabricación de cerveza hay que tener en cuenta ciertos parámetros para obtener un buen producto con las características organolépticas que se esperan con su receta. Cada cervecero los estudia, utiliza y modifica. Estas variables son la densidad inicial y densidad final, tiempo y temperatura de fermentación primaria, maduración y fermentación secundaria en botella y grados de amargor o *IBU*.

- **Densidad inicial y densidad final:** La densidad inicial es la cantidad de azúcar que está disuelta en el mosto antes de que empiece su fermentación, mientras que la densidad final es la cantidad de azúcar disuelto que presenta la cerveza cuando la fermentación ha finalizado. La densidad puede medirse mediante el uso de un densímetro, basándose en el hecho que todo cuerpo sumergido en un líquido, desplaza un volumen de líquido de igual peso que el propio. La densidad puede expresarse en grados plato (°P), Brix o en densidad específica. La densidad específica es relativa al peso de un litro de líquido con el azúcar disuelto. La densidad específica del agua pura es 1,000, por lo que cuando se indica que un mosto tiene una densidad específica de 1,045 significa que hay 45 gramos de azúcar disueltos en un litro de líquido, ya sea al inicio o al final de la fermentación (7). Estas variables están estrechamente ligadas con el grado alcohólico de la cerveza. El grado alcohólico es el número de volúmenes de etanol disueltos en 100 volúmenes de bebida. Conociendo la densidad inicial del mosto, se puede calcular el grado alcohólico del que va a disponer nuestra cerveza, porque se conoce la cantidad de azúcar que va a estar disponible para las levaduras y que va a ser transformado en alcohol y por consecuencia, conocer también la densidad final (4). Normalmente, las cervezas artesanas tienen más grados que las cervezas industriales, se cree que es debido a la cepa de levadura utilizada, a la temperatura de fermentación primaria, aireación, dosis y condiciones de siembra de la levadura y a la calidad de las materias primas (11,12).
- **Fermentación primaria:** Es la fermentación inicial durante la cual la mayoría de azúcares presentes en el mosto son transformados en alcohol por acción de las levaduras.
- **Tiempo y temperatura de fermentación primaria:** Su tiempo y temperatura depende del género de levadura usado y del maestro cervecero, pero normalmente para levaduras altas

empezando a 15-17°C y aumentando progresivamente hasta 20-22°C durante 3 o más días, y para levaduras bajas de 6-14°C durante 8-20 días (1).

- **Maduración (guarda o fermentación secundaria):** Es el proceso después de la fermentación primaria, al que debe someterse la cerveza para obtener las características organolépticas y de composición propias, una gasificación más fuerte, mejor espuma, mejor sabor y estable física y microbiológicamente.
- **Tiempo y temperatura de maduración:** Depende de la receta utilizada pero comúnmente 7- 30 días a temperaturas bajas de 7°C (1).
- **Fermentación secundaria en botella:** Es la que tiene lugar una vez se ha envasado la cerveza, la cual contiene levaduras metabólicamente activas y carbohidratos aún fermentables. Normalmente este tipo de fermentación se realiza en botella o en barriles, siendo propia de las cervezas artesanas (9).
- **Tiempo y temperatura de fermentación secundaria en botella:** Depende de la levadura y del grado de alcohol que se haya producido en la fermentación primaria, pero normalmente se realiza a 12-17°C durante una o más semanas.
- **Grado IBU o grado de amargor:** Los grados IBU son indican la cantidad de  $\alpha$ -ácidos extraídos del lúpulo y convertidos en sustancias amargas solubles durante la ebullición del mosto. Los  $\alpha$ -ácidos se determinan por medio de titulación conductimétrica con una solución de acetato de plomo. Normalmente, las cervezas artesanas presentan grados de amargor superiores debido a la cantidad de lúpulo usado y su origen, método de adición, de la cocción, el pH, tiempo de permanencia en el tanque (7).

## 1.8 Compuestos de la cerveza

La cerveza contiene más de 2000 sustancias distintas, además de agua, alcohol, azúcares, sales minerales y dióxido de carbono. La mayoría de las sustancias que están disueltas, proceden de las materias primas y llegan a la cerveza sin ser modificadas, aunque existen otras que se transforman totalmente durante los procesos de elaboración (1). A continuación, en la tabla 1 se muestra la composición química aproximada de una cerveza común:

COMPUESTOS	CONCENTRACIÓN
Agua	918/1000g
Etanol	40,3g/kg- 51,5 ml/L
Carbohidratos	33,8g/L
Dióxido de carbono	5,15 g/kg
Proteína total (Aminoácidos)	4,2 g/L (1,2 g/L)
Glicerol, alcoholes, ésteres, ácidos orgánicos, aldehídos y cetonas	2100 mg/L
Minerales	1300 mg/L
Derivados del lúpulo	400 mg/L
Vitaminas (Vitaminas B)	210 mg/L (42,5 mg/L)
Sustancias fenólicas	175 mg/L
Anhídrido sulfuroso	5 mg/L
Contenido calórico	420 kcal/kg

**TABLA 1.** Composición química aproximada de una cerveza común.

La cerveza contiene compuestos fenólicos, minerales, vitaminas, fibra, proteínas, ácidos orgánicos y posee capacidad antioxidante (9).

Las materias primas que son fuente principal de compuestos fenólicos, los cuales ejercen capacidad antioxidante, son la cebada y el lúpulo. En la cebada, y por consiguiente la malta, contiene estos compuestos en forma de polímeros. Sus funciones no se conocen claramente, pero se cree que colaboran en la regulación de la contaminación por microorganismos y como reguladores endógenos de crecimiento. Pero para el cervecero, la característica más importante de los compuestos fenólicos de la malta es su capacidad para actuar como taninos o sus precursores, los cuales precipitan junto a las proteínas. Esta interacción es importante en la formación de precipitados durante el hervor de la malta con el lúpulo y el subsiguiente enfriamiento, y en la formación de enturbiamientos en la cerveza (1). En el lúpulo, los compuestos fenólicos residen en sus resinas y aceites esenciales. Esta materia prima contiene un compuesto llamado *xanthohumol*, que durante el proceso de

elaboración de la cerveza es transformado en su forma isomérica y representa la mayor parte de compuestos fenólicos de la cerveza. Este compuesto tiene capacidad antioxidante y se sugiere que posee actividad antiinflamatoria, previniendo el cáncer de próstata, reduciendo los síntomas de la menopausia y reduciendo el riesgo de padecer osteoporosis (13, 14). Existen estudios que defienden que el consumo moderado de cerveza disminuye el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes tipo 2 e hipertensión, aumenta los niveles de colesterol HDL y disminuye los niveles de LDL, atribuyéndose a la capacidad antioxidante que poseen los compuestos fenólicos de la cerveza y a su contenido en alcohol (15, 16, 17).

La cerveza es rica en minerales como calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro zinc y silicio, y vitaminas del grupo B, proveniente de la cebada, el agua y el lúpulo. En particular, la cebada contiene cantidades importantes de silicio (aproximadamente 20 mg/L), el cual está involucrado en el crecimiento y desarrollo de los huesos (18,19).

El contenido de fibra dietética en cerveza es bajo, aproximadamente de un 2 g/L, la cual proviene básicamente de la cebada y del lúpulo. La cerveza aportaría entre 1,6-5% de la ingesta diaria recomendada. La fibra de la cerveza retarda la evacuación gástrica, generando una mayor sensación de saciedad y haciendo más eficiente la digestión y absorción del alimento. Llega intacta al colon donde es fermentada totalmente por las bacterias colónicas y produce hidrógeno, metano, dióxido de carbono, ácidos grasos de cadena corta, ácido acético, butírico y propiónico. Al ser muy fermentable favorece el crecimiento de la flora bacteriana, aumentando el volumen y consistencia de las heces. Además, la fibra soluble es capaz de disminuir la absorción de grasas y azúcares de los alimentos, lo que podría contribuir a regular los niveles de colesterol y de glucosa en sangre (20, 21).

El contenido de proteína en una cerveza es bajo y proviene de la cebada (o cereales). Las proteínas son esenciales porque ejercen actividad enzimática, aseguran el crecimiento de las levaduras y juegan un papel clave para la calidad y estabilidad de la espuma, formando una película visco-elástica alrededor de las burbujas de gas (9). Sin embargo, niveles altos de proteína (>13%), producen menor mosto fermentable, debido a que la proteína reemplaza al almidón en el grano, siendo más difícil de degradar y, niveles bajos comprometen la suavidad y la estabilidad de la espuma (1). No obstante, durante el proceso de malteado las proteínas pasan al germen, por lo que en la etapa de desgerminación, el contenido en nitrógeno disminuye. El etanol mejora la formación de espuma pero disminuye su estabilidad, por eso es importante que cervezas con una graduación alcohólica alta, tengan una buena proporción de proteína (23, 24, 25).

## 2. JUSTIFICACIÓN

La cerveza es una de las bebidas más consumidas y socialmente más aceptadas en todo el mundo. En España se consumieron en 2013, un total de 46,3 litros per cápita y es el cuarto productor de cerveza de la Unión Europea y el décimo a nivel mundial en 2014, con una producción de 33,6 millones de hectolitros. En cuanto a productores españoles de cervezas industriales, el líder es el grupo *Mahou-San Miguel*, con 12,3 millones de hectolitros, seguido de los grupos Heineken (9,8 miles de hl) y grupo Damm (8,2 miles de hl). No obstante, tan sólo alrededor del 0'1% de la producción total de cerveza en España, es artesana. Se estima que todas las cerveceras artesanas juntas, lideradas por Catalunya y la Comunidad Valenciana, producen sólo unos 40.000 hectolitros. Mientras la producción de cerveza industrial se ha estancado o disminuido en los últimos años, el de cerveza artesanal presenta una tendencia alcista (24,25).

La producción y consumo de cerveza artesanal está ligado a recuperar procesos tradicionales de elaboración y a utilizar materias primas de mejor calidad, mientras que la elaboración de cerveza industrial se realiza a gran escala, buscando la mayor producción en el menor tiempo posible, utilizando materias primas más económicas. Por este motivo, sería interesante establecer comparaciones en el procesado y en las materias primas que se usan durante la elaboración, para determinar las diferencias que pueden poseer.

Existen numerables estudios que recogen los efectos beneficiosos del consumo moderado de cerveza, asociados a su composición nutricional. Por ello, este análisis trata de determinar el contenido en proteína, fibra, fenoles totales y capacidad antioxidante que contienen distintas muestras de cervezas artesanales e industriales, para averiguar en qué proceso se puede intervenir para conseguir mayores niveles. Con esto, se podrían potenciar las propiedades funcionales de la cerveza y ofrecer a la población un producto más recomendable.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general**

- Comparar las diferencias cuantitativas entre distintos tipos de cervezas artesanales e industriales en relación al contenido de proteína, fibra, fenoles totales y capacidad antioxidante.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Relacionar el contenido en compuestos bioactivos con las materias primas y las etapas de filtrado y pasteurización que se usan en la elaboración de cerveza artesanal e industrial.
- Determinar si existe una relación entre el contenido de compuestos bioactivos estudiados y la densidad inicial y final, temperaturas y tiempo de fermentación primaria, maduración y fermentación secundaria en botella, además del grado de amargor de la cerveza.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se compararon ocho tipos distintos de cervezas artesanales y cinco tipos de cervezas industriales. Cada una de ellas presentaba estilos y características organolépticas distintas, las cuales se muestran a continuación:

#### 4.1.1 Muestras de cervezas artesanales

1. **MALTRAGO**: Cerveza artesana de fermentación alta, irlandesa y de estilo *Imperial Wheat Stout*. Elaborada con agua, malta de trigo y cebada tostada, lúpulo y levadura. Presenta un aroma rico y complejo con tonos de café, chocolate oscuro o ligeramente a quemado. El aspecto es negro azabache (cerveza negra), con una espuma marrón claro y voluminosa. Intensamente saborizada, tostada, frutal y agri dulce, con una intensa presencia del alcohol.
2. **FLOR DE LLÚPOL**: Cerveza artesana de fermentación alta y estilo *American Pale Ale*. De estilo americano, elaborada con agua, malta de cebada biológica, centeno de *Tarroja de Segarra*, lúpulo y levadura. Presenta un aroma intenso a lúpulo, con tonos cítricos y frutados, con pequeñas cantidades del carácter de las maltas de centeno. El aspecto es dorado pálido, con una espuma bien formada y blanca. Sabor suave, refrescante y lupulada, sin ser astringente.
3. **TERRÓS**: Cerveza artesana de fermentación alta y estilo *Brown Ale*. De estilo inglés, elaborada con agua, malta de cebada, centeno, lúpulo y levadura. Presenta un aroma dulce, similar a caramelo, de aspecto marrón rojizo. Espuma suave y de color canela. Sabor dulce y seco con tonos de caramelo y nuez.



4. MATA-ELEFANTES: Cerveza artesana de fermentación alta y estilo *Indian Pale Ale*. Elaborada con agua, malta de cebada, trigo ecológico de *Tarroja de Segarra*, lúpulo y levadura. Presenta un aroma intenso a lúpulo, caramelo y malta tostada. De color cobre liviano y ligeramente turbia. Sabor fuerte a lúpulo, la malta muestra un sabor a pan, bizcocho tostado y *toffe*, siendo seco y amargo.



5. BÓIRA DE MENÁRGENS: Cerveza artesana de fermentación alta y estilo *Weissbier (trigo blanco)*. De estilo alemán, elaborada con agua, malta de cebada, trigo ecológico de *Tarroja de Segarra*, lúpulo y levadura. Presenta un aroma leve a trigo, vainilla y una ligera acidez cítrica. De color dorado, con una espuma espesa, blanca y duradera. El sabor es suave, frutado y refrescante, con carácter ácido y cítrico proveniente de la levadura y la alta carbonatación.



6. DUNKEL DUNK: Cerveza artesana de fermentación alta y estilo *Dunkel Weizen (trigo negro)*. De estilo alemán, elaborada con agua, malta de cebada, trigo ecológico de *Tarroja de Segarra*, lúpulo y levadura. Presenta un aroma leve a vainilla, lúpulo y trigo. De color cobre claro, con una espuma muy espesa (tipo *mousse*), blanca y duradera. El sabor es suave, frutado, especiado y el lúpulo presenta un amargor muy bajo.





7. **BLEDER DRAC**: Cerveza artesana de fermentación baja y estilo *European Pale Lager*. De estilo europeo, está elaborada con malta de cebada, agua, lúpulos europeos y levadura. Presenta un aroma fresco y lupulizado. Es de color miel con una espuma blanca, densa y compacta. El sabor es muy amargo con un final seco.



8. **PERA NOSTRA**: Cerveza artesana de fermentación alta y estilo *Fruit beer*. De estilo híbrido americano, está elaborada con agua, malta de cebada, trigo ecológico de Tarroja de Segarra, lúpulo, extracto de pera y levadura. Presenta un aroma dulce, frutado y lupulizado. De color dorado, brillante y con un nivel de espuma bajo pero con una buena retención. De sabor suave a malta dulce, sin amargor áspero y sin astringencias.



Las características y variables de elaboración de cada muestra artesanal quedan recogidas en la Tabla 2.

	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Densidad inicial</b>	1050-1075+	1045-1060+	1040-1052	1050-1075	1044-1052	1044-1056	1063	1051
<b>Densidad final</b>	1010-1022+	1010-1015+	1008-1013	1010-1018	1010-1014	1010-1014	1010	1010
<b>Fermentación primaria</b>	8 días a 19°C	8 días a 19°C	8 días a 19°C	8 días a 19°C	8 días a 19°C	8 días a 19°C	5 días a 13°C	8 días a 19°C
<b>Maduración</b>	14 días a 18,5°C	14 días a 18,5°C	14 días a 18,5°C	14 días a 18,5°C	14 días a 18,5°C	14 días a 18,5°C	30 días a 7°C	14 días a 18,5°C
<b>Fermentación secundaria en botella</b>	7 días a 12°C	7 días a 12°C	7 días a 12°C	7 días a 12°C	7 días a 12°C	7 días a 12°C	30 días a 14°C	7 días a 12°C
<b>Grado de amargor</b>	55+	30-45+	20-30+	40-60+	14	18	25	21
<b>Grado alcohólico</b>	9,1%	6,8%	5,4%	6,5%	6,2%	5,6%	6%	5,5%

**TABLA 2.** Características y variables de elaboración de cada muestra de cerveza artesanal.

Tal y como se observa en la tabla, existen diferencias en cuanto a la densidad inicial, grado de amargor y grado alcohólico de las muestras. Las demás variables resultan ser similares, a excepción de *Bleder Drac*, que presenta distintos tiempos y temperaturas de fermentación primaria, maduración y fermentación secundaria en botella. (*Maltrago*: 1; *Flor de Llúpol*: 2; *Terrós*: 3; *Mataelefantes*: 4; *Bóira*: 5; *Dunkel Dunk*: 6; *Bleder Drac*: 7 y *Pera Nostra*: 8)

## 4.2.2 Muestras de cervezas industriales

1. **VOLL-DAMM**: Cerveza industrial de fermentación baja y estilo Oktoberfest / Märzen. De estilo alemán, está elaborada con agua, malta de cebada y arroz, maíz, lúpulo y levadura. Presenta un aroma a malta tostada y un color naranja rojizo profundo, cristalina, brillante y con una espuma blanca y sólida. El sabor es dulce (debido a la malta de arroz y maíz, ya que son cereales que contienen % de azúcar elevados), pero el final es moderadamente seco. Suave, con una textura cremosa y de baja carbonatación.
2. **ESTRELLA DAMM**: Cerveza industrial de baja fermentación y estilo *Blonde Lager (American Standard Lager)*. De estilo americano y elaborada con agua, malta de cebada, arroz, lúpulo y levadura. Presenta un aroma escaso a malta y a lúpulo con un leve toque frutado. Color pajizo muy pálido, con una espuma blanca y poco resistente. El sabor es fresco y seco, ligeramente amargo. Los niveles altos de carbonatación proporcionan una ligera acidez.
3. **GUINNESS**: Cerveza industrial de alta fermentación y estilo *Dry Stout*. De estilo irlandés y elaborada con agua, malta de cebada, lúpulo y distintas levaduras. Presenta un aroma a malta tostada, similar al café. De color negro azabache y con una espuma marrón claro, gruesa, cremosa y persistente. El sabor es tostado, agrio-ácido y el final es seco, de textura cremosa.



4. SAN MIGUEL: Cerveza industrial de baja fermentación y estilo *Blonde Lager* (*American Standard Lager*). De estilo americano y elaborada con agua, malta de cebada, lúpulo y levadura. Presenta un aroma escaso a malta y a lúpulo con un leve toque frutado. Color pajizo muy pálido, con una espuma blanca y poco resistente. El sabor es fresco y seco, ligeramente amargo. Los niveles altos de carbonatación proporcionan una ligera acidez.



5. SAN MIGUEL 0,0°: Cerveza industrial de baja fermentación, sin alcohol y estilo *Blonde Lager*. Clasificada como cerveza especial y de estilo americano, está elaborada con agua, malta de cebada, lúpulo y levadura. Presenta cualidades organolépticas similares que la muestra de San Miguel, pero ha sufrido un proceso de destilación o dialización para poder eliminar el contenido de alcohol.



Las características y variables de elaboración de cada muestra industrial queda recogido en la Tabla 3.

	1	2	3	4	5
<b>Densidad inicial</b>	1063	1040	1040	1040	1040
<b>Densidad final</b>	1010	1004	1004	1004	1004
<b>Fermentación primaria</b>	5 días a 13°C	5 días a 13°C	5 días a 13°C	5 días a 13°C	5 días a 13°C
<b>Maduración</b>	30 días a 7°C	30 días a 7°C	30 días a 7°C	30 días a 7°C	30 días a 7°C
<b>Grado de amargor</b>	25+	20	20	15	35
<b>Grado alcohólico</b>	7,2%	5,4%	5,4%	0,5%	5%

**TABLA 3.** Características y variables de elaboración de cada muestra de cerveza industrial.

Tal y como se observa en la tabla, existen diferencias en cuanto al grado de amargor y al grado alcohólico de las muestras. La muestra de *VollDamm* se diferencia de las demás en cuánto a densidad inicial y final. (*VollDamm*: 1; *Estrella Damm*: 2; *Guinness*: 3; *San Miguel*: 4; *San Miguel 0,0°*: 5).

## 4.2 MÉTODOS

Se analizó proteína, fibra, fenoles totales y la capacidad antioxidante en cinco tipos de cervezas industriales y en ocho cervezas artesanas. Se realizó una centrifugación de las muestras para desgasificar la cerveza durante cinco minutos a 30° revoluciones fijas. Los tubos de centrífuga se mantuvieron abiertos durante éste proceso para evitar la evaporación total del alcohol.

### 4.2.1 Proteína

Para conocer cuantitativamente la concentración de proteínas se utilizó la prueba de *Bradford*. Se basa en la unión específica del colorante *Coomassie blue* G-250 (CBBG) o reactivo de

*Bradford* con las proteínas disponibles de las muestras a analizar. El CBBG en solución ácida, existe en dos formas, una azul y la otra naranja. Las proteínas se unen a la forma azul para formar el complejo proteína-colorante, produciendo una absorbancia máxima de 595 nm, mientras que el colorante libre tiene una absorbancia máxima de 470 nm.

La determinación del contenido proteico requiere una comparación del valor de absorbancia de la muestra con las obtenidas, a partir de las cantidades conocidas de proteínas, con el que se construye una recta de calibración; a mayor cantidad de proteínas, mayor desarrollo y, por tanto, mayor absorbancia.

Los análisis de proteína se realizaron por duplicado, en dónde a 3 µL de la muestra se añadió 157 µL de agua y 40 µL de reactivo de Bradford. Se construyó la recta de calibración de 1µL - 40µL utilizando cantidades conocidas de albúmina sérica (0,1 µg/µL). Finalmente, se realizó la lectura espectrofotométrica a 595 nm.

#### 4.2.2 Fibra

El método que se utilizó para medir la cantidad de fibra existente en los distintos tipos de cervezas simula la digestión enzimática en el tracto gastrointestinal.

Los reactivos y enzimas utilizados fueron:

TAMPONES	ENZIMAS
HCl- KCl 0,2M pH 1,5	Pepsina pH 1,5
Tris-maleato 0,1M pH 6,9	α-amilasa pH 6,9
Fosfato 0,1M pH 7,5	Pancreatina pH 7,5
Acetato de Sodio 0,4M pH 4,75	Amiloglucosidasa pH 4,75

**TABLA 4.** Reactivos y enzimas usados en la cuantificación de fibra.

Para la digestión *in vitro* por muestra se pesaron 300 µL y se añadió 10 mL de tampón HCl-KCl. Se ajustó el pH a 1,5. Se añadió 0,2 ml de la enzima pepsina (pH 1,5, Merck 7190) y se incubó durante una hora a 40°C. Seguidamente, se enfriaron las muestras y se introdujo 4,5 ml

de tampón fosfato, ajustando el pH a 7,5. Se agregó 1 ml de la enzima pancreatina (pH 7,5, Sigma P-1750) y se volvió a incubar durante seis horas a 37°C. Una vez terminado este proceso, se enfriaron nuevamente y se añadió 9 mL de tampón tris-maleato pH 6,9, ajustando a este pH. Se agregó 1 mL de  $\alpha$ -amilasa (pH 6,9 Sigma A-3176) y se dejó incubando durante 16 horas a 37°C.

Posteriormente, las muestras se introdujeron en tubos de diálisis (*12000-14000 MWCO; Dialysis Tubing Visking Medicell International Ltd., London, U.K.*) sumergiéndolos en agua a 25°C, durante 48 horas a un flujo de agua de 7 litros/hora. Una vez concluida esta parte, se utilizaron 4,25 ml de la muestra con 0,25 ml de ácido sulfúrico 1M y se hidrolizó durante 90 minutos. Para determinar el contenido de fibra soluble, se midió como azúcares reductores utilizando el reactivo DNS o ácido 3,5 dinitrosalicílico. Este reactivo tiene la capacidad de oxidar los azúcares reductores que poseen extremos carbonilos fácilmente oxidables dando resultados colorimétricos que se pueden medir con una longitud de onda de 530nm en el espectrofotómetro. Se utilizaron 50 $\mu$ L de muestra/patrón, 25 $\mu$ L de NaOH, 100  $\mu$ L de reactivo DNS y una vez mezclado, se añadió 1 mL de agua destilada. Se incubó a 100°C durante 10 minutos. La recta de calibración fue de 0 a 2000 ppm de glucosa y se realizó la absorbancia a 530 nm.

#### **4.2.3 Fenoles totales**

Para la determinación de fenoles totales se utilizó el reactivo *Folin-Ciocalteu*, produciéndose reacciones de oxidación-reducción y siendo el patrón y la referencia el ácido gálico. El reactivo (oxidante) es de color amarillo y al ser reducido por los grupos fenólicos (reductores) da lugar al característico color azul propio de las reacciones con estas sustancias. Por este motivo, a más cantidad de fenoles, el color azul será más intenso.

Se utilizaron 20 $\mu$ L de la muestra de cerveza y 20 $\mu$ L de reactivo *Folin-Ciocalteu*, dejando reaccionar durante tres minutos. A continuación, se añadieron 400  $\mu$ L de carbonato de sodio (75 g/L) y 560  $\mu$ L de agua destilada, dejando reaccionar durante una hora. Se construyó la recta de calibración de 0 a 400 ppm de ácido gálico, para lo que se disolvió 0,0436 g de ácido gálico en 10 mL de agua destilada. Se procedió a la lectura de la absorbancia a 750 nm.

#### 4.2.4. Capacidad antioxidante

El método de medición de capacidad antioxidante FRAP se basa en el poder que tiene una sustancia antioxidante, en este caso, la cerveza, para reducir el  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ , siendo menos antioxidante. Se utiliza en conjunto con una sustancia llamada TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) porque es un indicador de oxidación del hierro. EL TPTZ es incoloro pero cuando es reducido al complejo ferroso, es coloreado. Se utilizaron como reactivos el tampón acetato (0,3M pH 3,6), 2, 4,6-tri (2-piridil)-s-triazina o TPTZ (10 mM, disuelto en 10 ml de HCl) y cloruro de hierro III 20 mM.

Para la preparación del reactivo FRAP se mezcló 10 ml de tampón acetato, 1 ml del TPTZ disuelto y 1 ml de  $\text{FeCl}_3$ , manteniéndolo en baño a  $37^\circ\text{C}$ .

La recta de calibración se construyó mediante la solución de Trolox La solución madre se preparó añadiendo 0.0064 gr de Trolox con 25 ml de agua destilada. Para proceder a la lectura de la absorbancia, se utilizaron 7,5  $\mu\text{L}$  de la muestra de cerveza con 22,5  $\mu\text{L}$  de agua y 225 $\mu\text{L}$  del reactivo FRAP. Se dejó reposar durante 30 minutos y se evaluó la absorbancia a 595 nm, realizando la recta de calibración de 0 a 1000  $\mu\text{M}$  de Trolox.

### 4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se presentan como media +/- desviación estándar como medida de dispersión de cuatro repeticiones. Para las gráficas se utilizó el coeficiente de correlación de *Pearson* , necesario para establecer una relación lineal entre dos variables cuantitativas, como son los compuestos bioactivos analizados y las diferentes variables de elaboración de las cervezas.

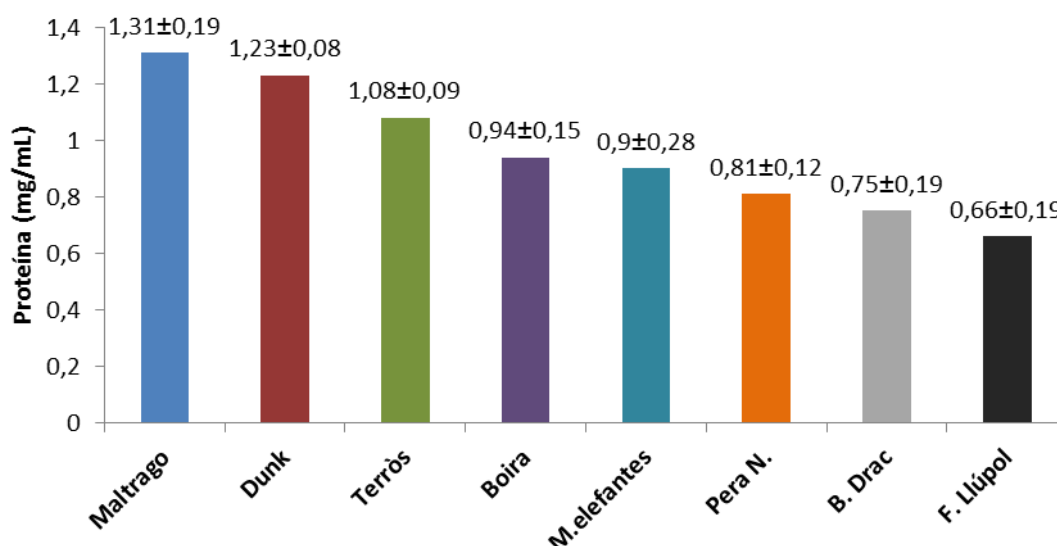


## 5. RESULTADOS Y DISCUSSION

### 5.1 DIFERENCIAS DE COMPOSICIÓN ENTRE LAS MUESTRAS

#### 5.1.1 Contenido de proteína

En la gráfica 1, se indica el contenido de proteína de las muestras de cervezas artesanales. La que presentó niveles de proteína más elevados, fue *Maltrago* con 1,31 mg/mL y la muestra que presentó menos fue *Flor de Llúpol* con 0,66 mg/mL. Estas dos muestras provienen de la misma microcervecería, por lo que se usan prácticamente los mismos procesos de elaboración y levaduras de fermentación alta en los dos casos. Sin embargo, sus diferencias podrían radicar en el proceso de secado/tostado y en la mezcla de cereales que se usan para su elaboración. *Maltrago* es una cerveza negra, por lo que la malta usada ha sufrido un grado de tostado mucho más elevado que *Flor de Llúpol*. Durante el secado/tostado las proteínas se coagulan y hay menos pérdidas, por lo que esta unión es más eficiente en granos tostados durante más tiempo, que no en los que están parcial o levemente, tostados. Por este motivo, *Maltrago* presenta un grado más elevado de proteína (1,10). En cuanto a los ingredientes, *Flor de Llúpol* contiene malta de cebada y centeno, mientras que *Maltrago* contiene malta de cebada y trigo. Estos cereales contienen porcentajes de proteína distintos: Cebada 10,6%, Trigo 12,7% y centeno 8,2%. *Maltrago* está compuesta por cereales que contienen mayor porcentaje, por lo que los niveles de proteína en la cerveza, también son mayores (27). Por este motivo, la espuma de *Maltrago* es más voluminosa y duradera que en *Flor de Llúpol*. Durante la fermentación para la elaboración de *Maltrago*, el contenido proteico de sus cereales podría asegurar la nutrición de las levaduras durante más tiempo. En cambio, para la elaboración de *Flor de Llúpol*, las levaduras podrían carecer de compuestos nitrogenados suficientes.

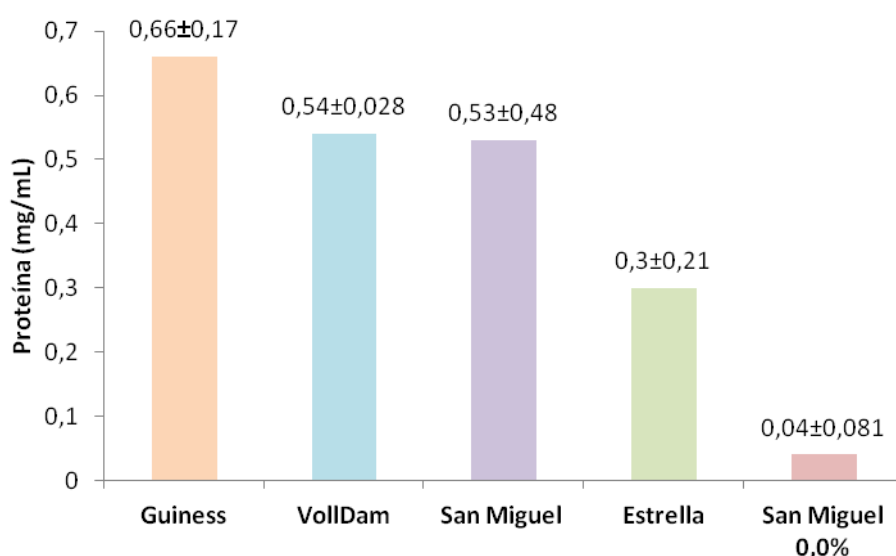


**GRÁFICA 1.** Contenido de proteína en las distintas muestras de cervezas artesanales, expresado en mg/mL de muestra.

En la gráfica 2, se indican los niveles de proteínas que presentan las cervezas industriales analizadas. *Guinness* con 0,66 mg/mL, es la que contiene más proteína y *San Miguel 0,0%* con 0,04 mg/mL la que tiene menos. Las dos muestras están elaboradas con malta de cebada (10,6% de proteína), pero *Guinness* sufre un proceso de secado/tostado más largo que *San Miguel 0,0%*, por lo que la coagulación proteica es más eficaz.

Las cervezas 0,0% son sometidas a distintos métodos para poder extraerles el alcohol, como por ejemplo, el destilado, el dializado y la ósmosis inversa. El destilado es el método que se usa para separar el etanol de la cerveza usando calor. Se cree que éste proceso produce pocas pérdidas de compuestos nitrogenados porque no suelen ser volátiles como el etanol, permaneciendo en la cerveza. En cambio, en el dializado y en la ósmosis inversa, se realiza la difusión de moléculas a través de membranas especiales o membranas semipermeables, de manera que las moléculas pequeñas como el agua y el alcohol pasan a su través. De modo que sería posible que determinados compuestos nitrogenados no pudieran pasar a través de las membranas, siendo excluidos del producto final. Por este motivo, los niveles bajos de *San Miguel 0,0%* se atribuyen más al dializado o bien, a la ósmosis inversa, que al destilado. No obstante, otra de las formas para obtener un producto final con bajo contenido en alcohol, es frenar la fermentación mediante el uso de mostos con pocos azúcares fermentables o separar la levadura por centrifugación o filtración para producir menores cantidades de etanol. Si esta

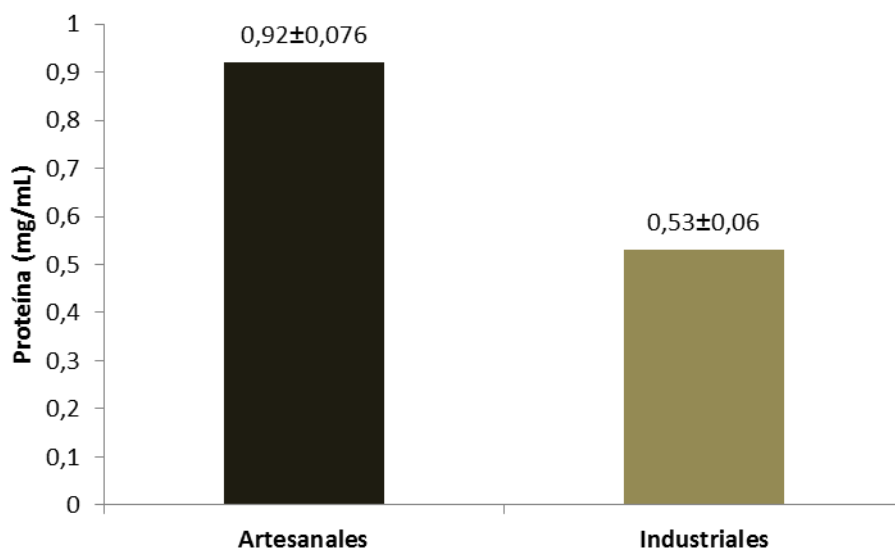
cerveza hubiese sufrido una parada de su fermentación, tendría un porcentaje de proteína más elevado, ya que para conseguir un mosto poco fermentable, sería necesario utilizar cereales con poco almidón, porque la proteína lo sustituye en el grano. De este modo, el porcentaje proteico sería mayor y se produciría menor grado de etanol. Pero según los resultados obtenidos, el hecho de que *San Miguel 0,0%* contenga niveles tan bajos de proteína se atribuyen al dializado o a la ósmosis inversa, y al proceso de secado/tostado más largo al que se somete *Guinness* (1).



**GRÁFICA 2.** Contenido de proteína en las distintas muestras de cervezas industriales, expresado en mg/mL de muestra.

Finalmente, en la gráfica 3 se indica, en forma de media, el contenido total de proteína de las cervezas artesanales e industriales. Las cervezas artesanales presentan un 0,92 mg/mL y las industriales 0,53 mg/mL. Estas diferencias pueden deberse a los procesos de elaboración y a la calidad de materias primas. Las cervezas industriales son sometidas a procesos que, normalmente, reducen los niveles proteicos en gran medida, como la realización de varios filtrados o clarificaciones, siendo uno de los motivos por el que se deben añadir aditivos y coadyuvantes para formar y estabilizar la espuma. En las cervezas artesanales no se lleva a cabo el filtrado, por lo que no se eliminan tantos compuestos nitrogenados. Además de estos procesos, hay que tener en cuenta las pérdidas de proteína por desgerminación de los granos

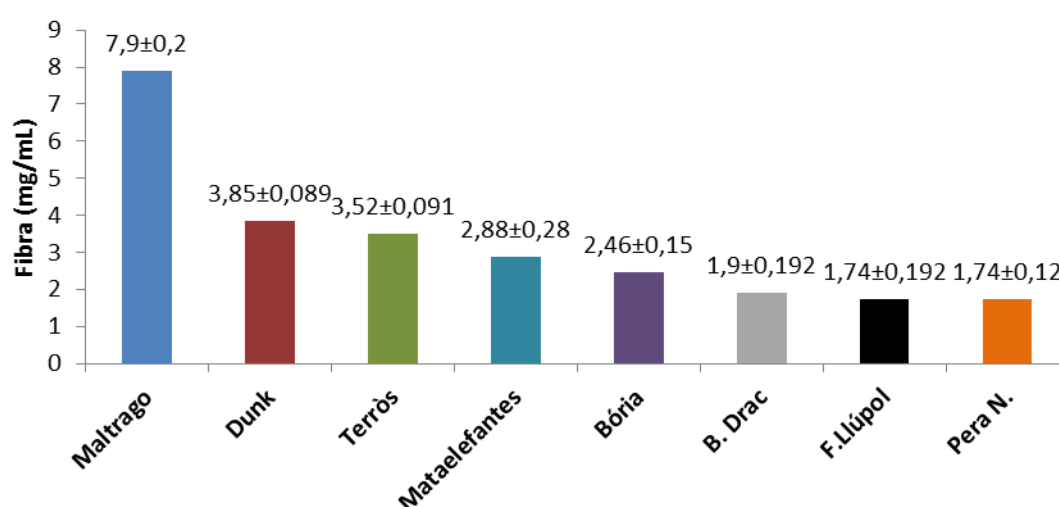
durante el malteado y al consumo que hacen las levaduras durante la fermentación (1, 7). El contenido proteico de la cerveza es un indicio de la malta que fue usada para la elaboración, por lo que la calidad de las materias primas también influye. Es importante utilizar cereales con niveles óptimos de proteínas (9-12%), ya que niveles bajos no podrían hacer frente a la nutrición de la levadura y, a niveles excesivos, sustituirían al almidón en el grano, produciendo un mosto con poco extracto fermentable. Cuando hay demasiados compuestos nitrogenados asimilables en el mosto, la levadura no puede utilizarlos todos y quedan en la cerveza, siendo un alimento para microorganismos extraños, suponiendo un peligro para la calidad y la conservación de la cerveza. Debido a las grandes producciones, en la industria cervecera se utilizan cereales más económicos que la cebada, como el arroz (6,4% proteína), y por tanto, son cereales que contienen menor cantidad de proteínas, induciendo a obtener cervezas con bajos niveles. En las microcervecerías artesanales se busca una mejor calidad de las materias primas, por lo que los cereales que se usan para el malteado, contienen niveles aptos para producir un mosto que pueda afrontar las pérdidas de todo el procesado, y aun así, obtener un producto final con algunos niveles proteicos. Por estos motivos, las cervezas artesanales analizadas contienen más proteína que las cervezas industriales (1,26).



**GRÁFICA 3.** Media del contenido de proteína en las muestras de cervezas artesanales e industriales, expresado en mg/mL de muestra.

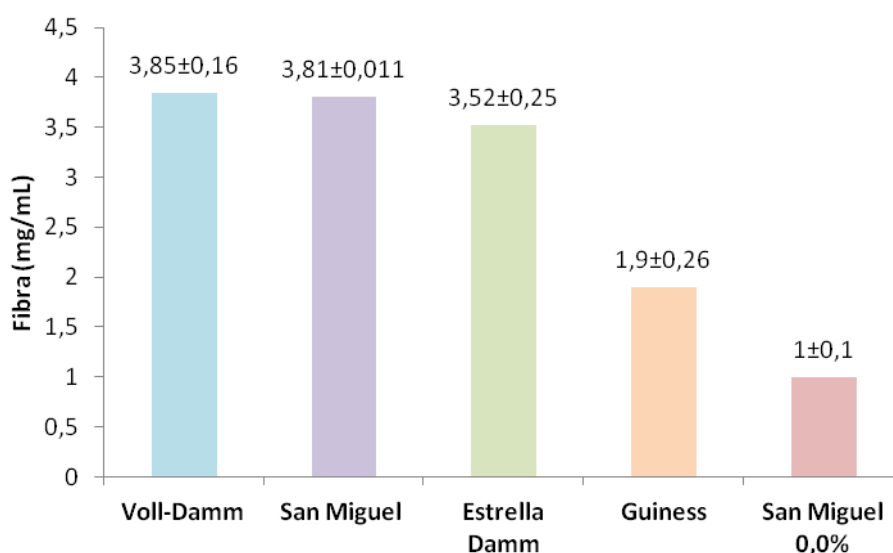
### 5.1.2 Contenido de fibra

En la gráfica 4, se muestra el contenido en fibra soluble de las diferentes cervezas artesanas. La muestra que más contenido en fibra presentó es *Maltrato* con un 7,9 mg/mL y las que presentaron menos son *Flor de Lúpulo* y *Pera* con 1,74 mg/mL. *Maltrato* está elaborada a base de malta de cebada y trigo, *Pera Nostra* de malta de trigo ecológico y cebada y *Flor de Lúpulo* de malta de cebada y centeno. Las diferencias en el contenido de fibra es debido a los diferentes porcentajes que poseen estos cereales, ya que la cebada contiene un 17,3%, el centeno 14,6%, el trigo 12,6% de fibra, aunque el trigo ecológico no se pudo concretar (26). En relación al porcentaje de fibra de los cereales, *Flor de Lúpulo* debería tener más cantidad de fibra, pero hay que tener en cuenta que *Maltrato* sufre un secado/tostado durante el malteado, por lo que la pérdida de la estructura del grano durante la producción del mosto, es menor. Esto favorece a niveles más altos de fibra. No obstante, también se cree que aunque estas muestras provengan de la misma microvervecería, se cree que *Maltrato* posee menos cantidad de levadura que las otras muestras. Esto es debido a que a niveles bajos de levadura, la fibra no puede ser fermentada completamente y, al no ser sometida a procesos de filtrado, permanece en la cerveza. La fibra también proviene del lúpulo, por lo que también ha podido ser elaborada con mayor cantidad de lúpulo fertilizado, que posee semillas (aumentando el % de fibra) y contiene más resinas, atribuyéndose a que *Maltrato* posee un grado de amargor más elevado que *Flor de Lúpulo* y *Pera*.



**GRÁFICA 4.** Contenido de fibra en las distintas muestras de cervezas artesanales, expresado en mg/mL de muestra

En la gráfica 5, se muestran los niveles de fibra que contienen las muestras de cervezas industriales. *Voll-Damm* es la que presenta más cantidad con 3,85 mg/mL y *San Miguel 0,0%* la que presenta menos con 1 mg/mL. *Voll-Damm* está elaborada con malta de cebada, arroz y maíz, mientras que *San Miguel 0,0%* solo presenta malta de cebada. Las diferencias en su contenido en fibra, pueden deberse a que, en *Voll-Damm*, los cereales que se utilizan para el malteado tienen más fibra o bien, que se le añade poca cantidad de levadura, de modo que se produce una fermentación leve de la fibra, con lo que permanece en la cerveza en mayor cantidad. Hay que tener en cuenta que *San Miguel 0,0%* podría sufrir una dialización o una ósmosis inversa para eliminar el etanol, además del filtrado, lo que podría disminuir aún más su contenido en fibra (7).

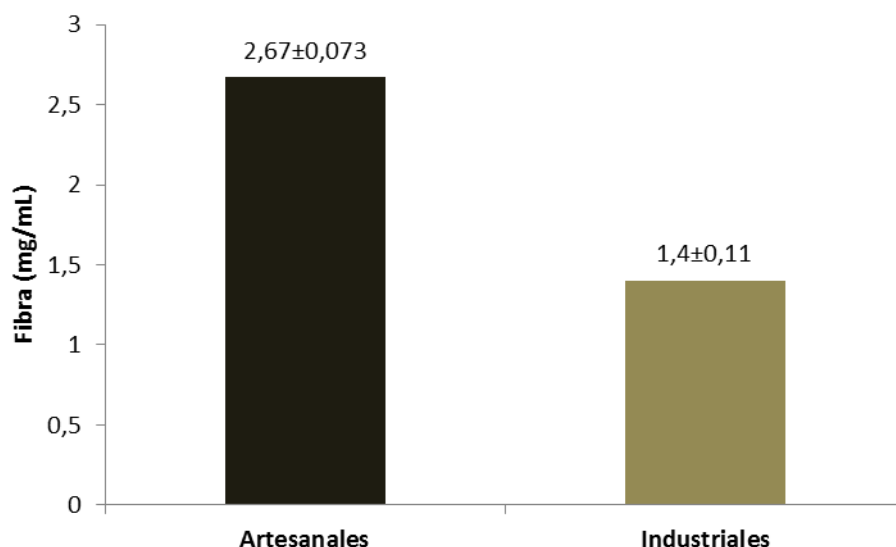


**GRÁFICA 5.** Contenido de fibra en las distintas muestras de cervezas industriales, expresado en mg/mL de muestra.

En la gráfica 6, se observa el contenido total, en forma de media, de fibra de las cervezas artesanales e industriales. Las cervezas industriales y artesanales presentan un 1,4 mg/mL y un 2,67 mg/mL de fibra, respectivamente. Los procesos de elaboración, como la filtración, que sufren las cervezas industriales eliminan parte de la fibra, por lo que mayormente se obtienen cervezas cristalinas (1). Por el contrario, una de las causas de que las cervezas artesanales sean más turbias, es que contengan niveles algo más altos de fibra. En cuanto a las materias primas, la fibra no es un parámetro que se busque en cervecería, por lo que la

calidad (en este aspecto), no se ve influenciada. No obstante, algunos de los granos de cereales que se utilizan en microcervecerías poseen porcentajes entre 12-16% de fibra, mientras que en la industria tienen menores porcentajes, como el arroz que contiene un 3,5% de fibra. No obstante, independientemente del porcentaje de fibra de la malta, las pérdidas son evidentes. Por lo que el hecho de que las cervezas industriales contengan menores cantidades de fibra, puede ser debido al proceso de filtración, el cual no se realiza en las cervezas artesanales.

Des del punto de vista nutricional, el consumo de una ración de cerveza artesana (250 ml) aportaría 0,66 g de fibra, teniendo en cuenta que la recomendación de ingesta de fibra es de 7,5 gr/día (30% del requerimiento total de 25gr/día). Una ración de cerveza artesanal aportaría, en promedio, alrededor de un 9%. Con lo cual, es interesante el hecho que cervezas artesanales con elevados contenidos en fibra como *Maltrago* (7,9 mg/mL), aportarían alrededor de 2gr de fibra soluble (aproximadamente el 26% recomendado).



**GRÁFICA 6.** Media del contenido de fibra de las muestras de cervezas artesanales e industriales, expresado en mg/mL de muestra.

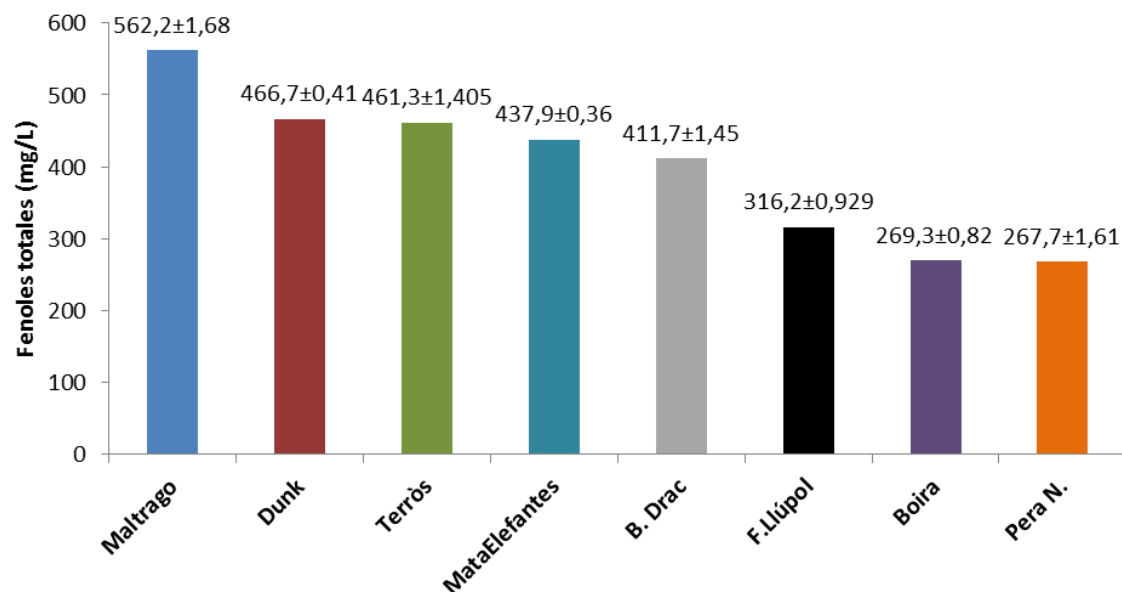
### 5.1.3. Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante

En la gráfica 7 se indica la cantidad de fenoles totales y en la gráfica 8 la capacidad antioxidante que contienen las muestras de cervezas artesanales. La capacidad antioxidante que poseen las cervezas viene dada, mayormente, por la presencia de compuestos fenólicos, por lo que van a ser discutidas a la vez. La muestra que ha presentado mayores niveles de fenoles totales es *Maltrago* con 562,2 mg/L y la que menos es *Pera Nostra* con 267,7 mg/L. Los compuestos fenólicos provienen del lúpulo, por lo que la diferencia entre estas muestras puede residir en la cantidad o variedad de lúpulo y no al procesado, porque reciben el mismo. En la muestra de cerveza de *Pera Nostra*, se cree que al añadir el extracto de la fruta, el cual presenta un aroma y sabor característico, se disminuye la cantidad de lúpulo para evitar cervezas con aromas y sabores extraños, por lo que se dan niveles más bajos de fenoles totales. Por el contrario, *Maltrago* podría contener más cantidad de lúpulo, proporcionando a la cerveza niveles de fenoles más altos.

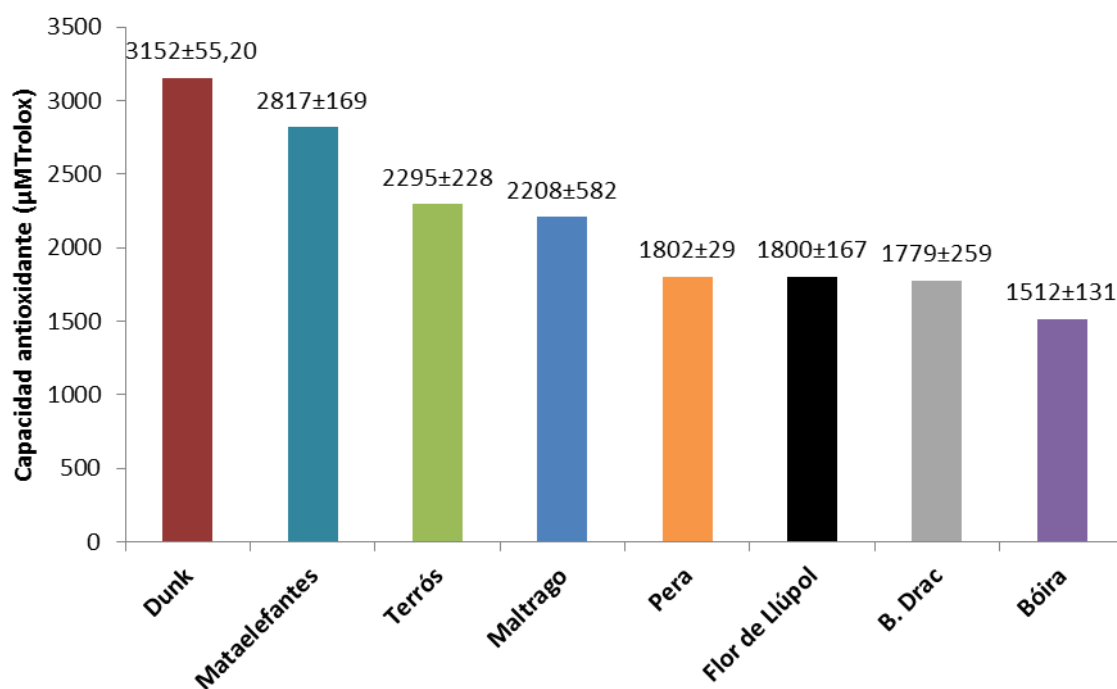
La muestra que presentó tener más capacidad antioxidante fue *Dunkel Dunk* con 3152  $\mu\text{M}$  de *Trolox* y la que menos fue *Bóira* con 1512  $\mu\text{M}$  de *Trolox*. Las diferencias entre estas muestras pueden deberse a la cantidad o variedad del lúpulo y también, a la cantidad de levadura añadida. *Dunkel Dunk* podría ser elaborada con mayores cantidades de lúpulos ricos en fenoles totales (proporcionando mayor capacidad antioxidante) y contener mayores cantidades de levadura. Se asocia a la levadura debido a que tiene capacidad de generar compuestos orgánicos antioxidantes durante los procesos de fermentación y al no realizarse la pasteurización, durante la fermentación secundaria en botella, podría aumentar la capacidad antioxidante de la cerveza. Es por ello, que la mayor capacidad antioxidante que contiene *Dunkel Dunk*, podría deberse a este hecho. Por lo contrario, *Bóira* ha podido ser elaborada con menores cantidades de lúpulo, teniendo menores niveles de fenoles totales que *Dunkel Dunk* (466.7 mg/L y 269.3mg/L, respectivamente) y de levadura, por lo que contiene menores niveles, proporcionando menor capacidad antioxidante que *Dunkel Dunk*.

Finalmente, es interesante remarcar que *Pera Nostra* es la que menores niveles de compuestos fenólicos presenta, pero no la que menor capacidad antioxidante posee. Es por ello, que se cree que las cantidades de levadura cervecera podrían ser esenciales para elaborar una cerveza con mayor capacidad antioxidante.





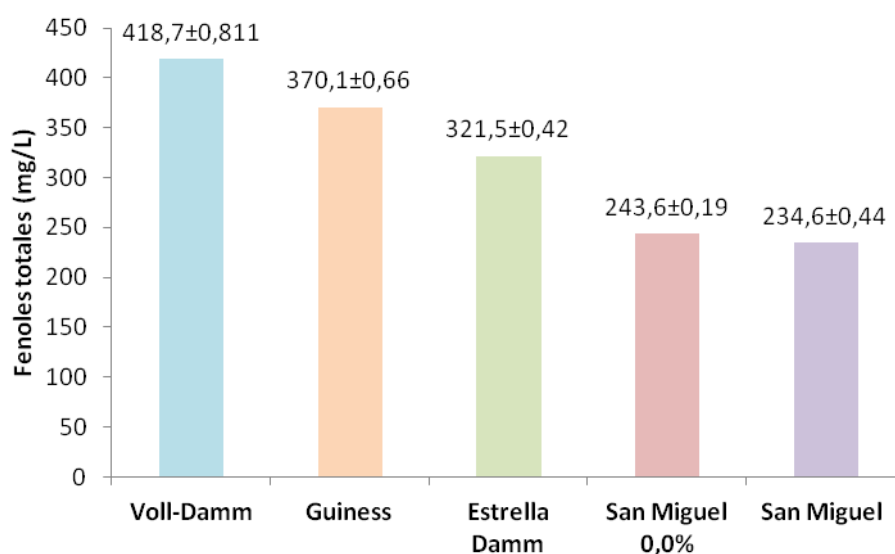
**GRÁFICA 7.** Contenido de fenoles totales en las distintas muestras de cervezas artesanales, expresado en mg/L de muestra.



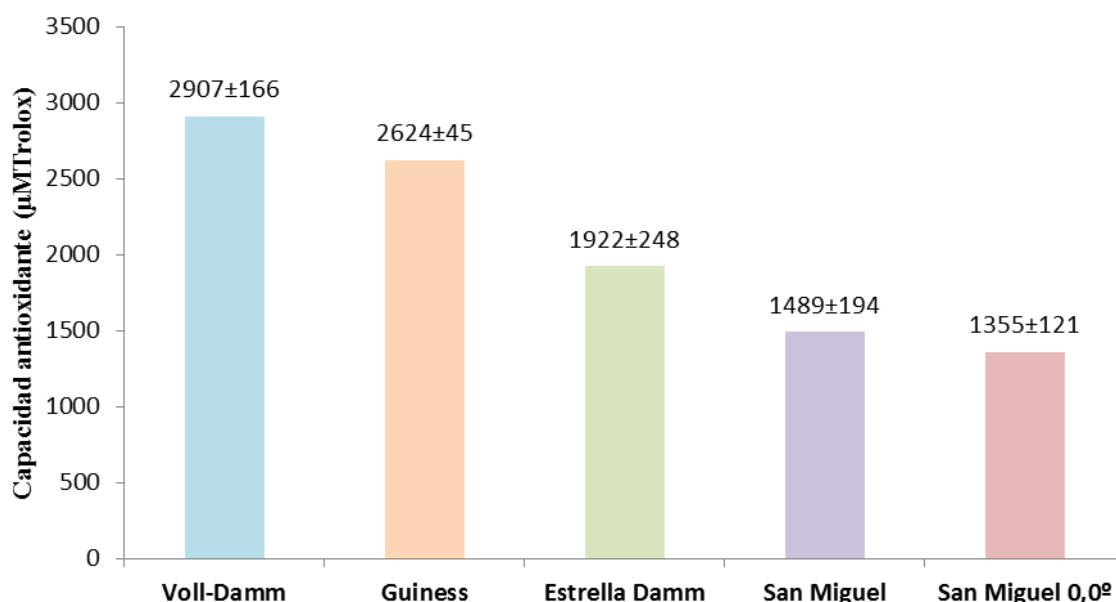
**GRÁFICA 8.** Capacidad antioxidante en las distintas muestras de cervezas artesanales, expresado en μM de Trolox.

En el gráfico 9 se ilustra la cantidad de fenoles totales y en la gráfica 10 la capacidad antioxidante de las muestras industriales. *Voll-Damm* es la que presenta mayores niveles de fenoles totales con un 418,7 mg/L, mientras que *San Miguel* es la que presenta menos con 234,6 mg/L. Estas diferencias pueden ser debidas a la calidad del lúpulo y no al procesado, porque es similar. *Voll-Damm* podría estar elaborado con mayores cantidades de lúpulos, con una mayor cantidad en resinas y aceites esenciales con mayores niveles de compuestos fenólicos. Debido a esto, se cree que *Voll-Damm* posee un grado de amargor y aroma muy superior al que presenta *San Miguel*. En cambio, *San Miguel* podría contener lúpulos de una calidad inferior, con menor cantidad de fenoles y con cantidades leves de resinas y aceites, por ello el grado de amargor es mucho más bajo y prácticamente carece de aroma.

La muestra que presentó tener más capacidad antioxidante fue *Voll-Damm* con 2907  $\mu\text{M}$  de Trolox y *San Miguel 0,0%* con 1355  $\mu\text{M}$  de Trolox. Estas diferencias pueden ser debidas a la calidad del lúpulo y al proceso de dializado u ósmosis inversa que recibe *San Miguel 0,0%*. No se considera que la cantidad de levadura pueda influir a generar más capacidad antioxidante durante los procesos finales de elaboración, porque las cervezas industriales son sometidas a una pasteurización, eliminando a estos organismos. La menor capacidad antioxidante que posee *San Miguel 0,0%* podría atribuirse a los procesos de elaboración que sufre y a la calidad del lúpulo con la que se elabora (ya que presenta menores niveles de compuestos fenólicos que *Voll-Damm*, con 243,6 mg/L). Por el contrario, *Voll-Damm* presenta mayores niveles de capacidad antioxidante y también, es la muestra de cervezas industriales que mayor contenido en fenoles totales posee (418,7 mg/L).



**GRÁFICA 9.** Contenido de fenoles totales en las distintas muestras de cervezas industriales, expresado en mg/L de muestra.

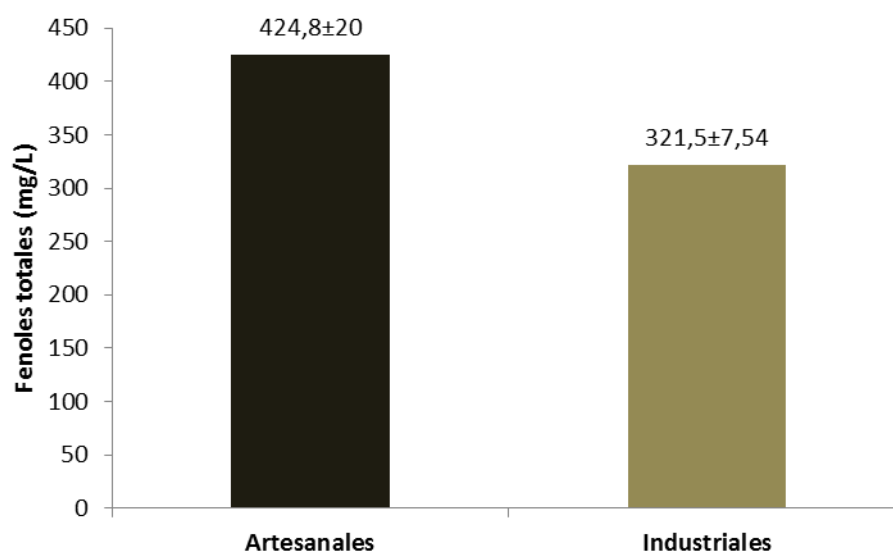


**GRÁFICA 10.** Capacidad antioxidante total de cervezas industriales, expresado en μM de Trolox.

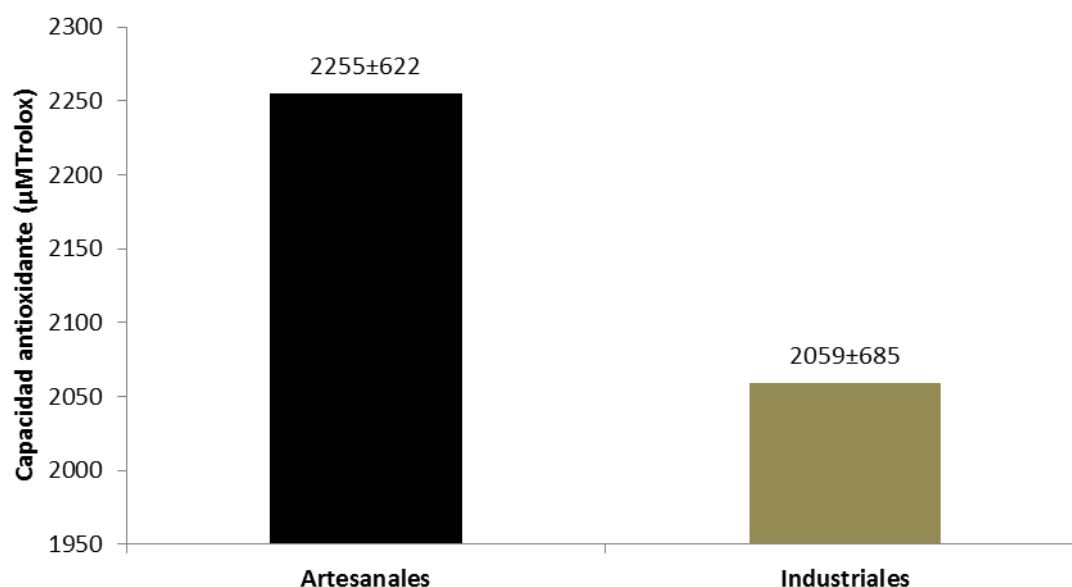
En la gráfica 11 se muestra la media de la cantidad de fenoles totales en las muestras de cervezas artesanales e industriales, con 424,8 mg/L y 321,5 mg/L, respectivamente. Mientras que en el gráfico 12 se muestra la diferencia entre la capacidad antioxidante, con 142,6 μM de *Trolox* en cervezas artesanales y 107,7 μM de *Trolox* en industriales. Las cervezas artesanales contienen más cantidad de fenoles totales y, por tanto, presentan mayor capacidad antioxidante que las muestras industriales. Estas diferencias se deben a la calidad de las materias primas y a los procesos de elaboración a las que son sometidas. En la industria, se intentan buscar materias primas más económicas, por lo que lúpulos más viejos y con poca cantidad de resinas y aceites influyen en el contenido de compuestos fenólicos y, como consecuencia, a que presenten una menor capacidad antioxidante. De este modo, en las cervezas artesanales, al usarse lúpulos más frescos, sus resinas y aceites están mejor conservados, dando lugar a preservar mejor su contenido en fenoles y la capacidad antioxidante. No obstante, según los resultados obtenidos, las cervezas industriales no se alejan mucho de las artesanales, por lo que se cree que los aditivos y coadyuvantes que se les añade en la producción del mosto y después de la filtración, podrían ayudar a disminuir esas pérdidas. Debido a los procesos de filtrados en las cervezas industriales, hace que muchos de los compuestos fenólicos se desprecien y no lleguen al producto final. En las cervezas artesanales, los fenoles residen parcialmente intactos, porque no son sometidas a filtración. Además, durante el proceso de fermentación, las levaduras pueden producir

vitamina C u otros ácidos orgánicos. Al eliminarse la pasteurización, prosiguen con su actividad (fermentación secundaria en botella), de modo que pueden aumentar la capacidad antioxidante de la cerveza, además de producir modificaciones en distintas características organolépticas de la cerveza. Es uno de los motivos de que posean mayor capacidad antioxidante que las industriales. En relación a las modificaciones durante el efecto térmico y el almacenado, existen estudios que defienden que la pasteurización no afecta al contenido en fenoles totales y a la capacidad antioxidante, pero si lo hace el almacenado. Almacenamientos muy prolongados pueden producir oxidaciones en la cerveza, disminuyendo su contenido en fenoles y por consiguiente, de capacidad antioxidante. El hecho de que exista esta diferencia en el contenido de fenoles totales entre artesanales e industriales, reside en el proceso de filtrado, pudiendo verse afectado también por el almacenamiento (27).

Des del punto de vista nutricional, el consumo de una ración de cerveza artesanal (250 mL), aportaría, en promedio, 106 mg de fenoles, correspondiendo al 4% de la recomendación de la ingesta Española (2800 mg/día). Y, finalmente, el consumo de la misma ración de cerveza artesanal (250mL) aportaría, en promedio, 564  $\mu\text{M}$  de Trolox (promedio), siendo el 9,4% de la ingesta de capacidad antioxidante medida por FRAP en la dieta española (5953  $\mu\text{M}$  de Trolox). Resulta interesante que cervezas artesanales con elevados contenidos en fenoles totales como *Maltrago* (562,1 mg/L) y con una elevada capacidad antioxidante como *Dunkel Dunk* (3152  $\mu\text{M}$  de Trolox), puedan aportar aproximadamente el 5% de la ingesta recomendada de compuestos fenólicos y un 13% de la capacidad antioxidante recomendada en la ingesta española (28,29).



**GRÁFICA 11.** Media del contenido de fenoles totales en las muestras de cervezas artesanales e industriales, expresado en mg/L de muestra.



**GRÁFICA 12.** Media de la capacidad antioxidante en las muestras de cerveza artesanal e industrial, expresado en µM de Trolox.

## 5.2 EFECTO DE LAS VARIABLES DE ELABORACIÓN EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

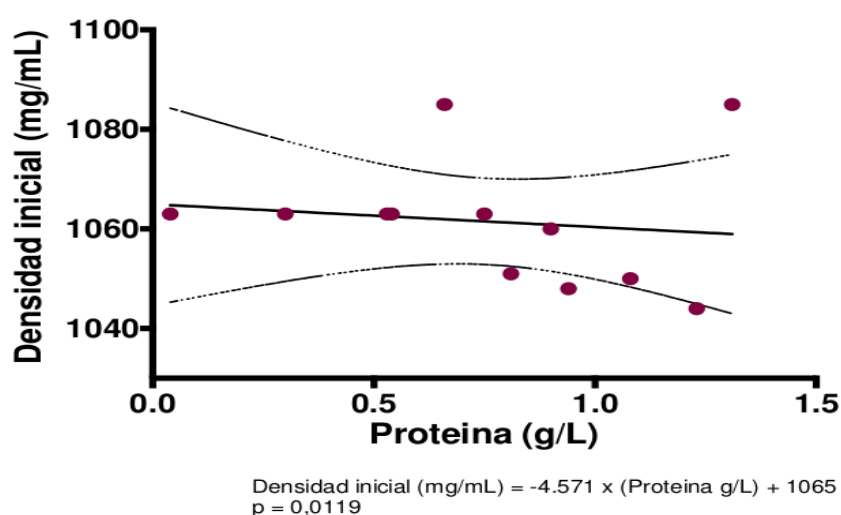
En la tabla 5 se recogen los grados de significación de las variables de elaboración que mostraron tener una relación significativa con los compuestos bioactivos analizados. Sólo se obtuvo una correlación significativa ( $p < 0,05$ ) de los parámetros de densidad inicial-proteína, densidad final-fibra, grados de amargor-fenoles totales y grados de amargor-capacidad antioxidante. Las demás variables no mostraron ninguna relación significativa con cantidad de proteína, fibra, fenoles totales y capacidad antioxidante.

Variables de elaboración	Proteína	Fibra	Fenoles totales	Capacidad antioxidante
Densidad Inicial	0,05	0,139	0,069	0,069
Densidad Final	0,107	0,05	0,118	0,115
T° fermentación secundaria	0,105	0,617	0,146	0,148
IBUS	0,104	0,205	0,019	0,019

**TABLA 5.** Grado de correlación significativa de las variables de elaboración que mostraron una relación con los compuestos bioactivos analizados.

En la gráfica 13, se muestra la relación que existe entre la densidad inicial y el contenido de proteína. Según los resultados obtenidos, existe una relación inversamente proporcional, por lo que a mayor densidad inicial del mosto, menor contenido proteico o bien, a mayor cantidad de proteína, el mosto presentará una densidad inicial menor. Esto es debido a que a niveles altos de proteína, se sustituye al almidón en el grano, dificultando su extracción y reduciendo la cantidad de azúcar fermentable que se libera al mosto, ocasionando densidades iniciales bajas. Además, provoca una disminución del proceso fermentativo y la producción de etanol y dióxido de carbono. Por el contrario, a niveles bajos de proteína, la cantidad de azúcar proveniente del almidón será mayor, con lo que se obtendrá un mosto con mayor extracto fermentable y por consiguiente, una densidad inicial mayor. No obstante, en cervecería son necesarios niveles óptimos de proteína ( $< 13\%$ ) para que se pueda obtener un mosto con el suficiente azúcar fermentable y hacer frente a todas las actividades enzimáticas que se van a producir durante el procesado de la cerveza, la nutrición de las levaduras y una

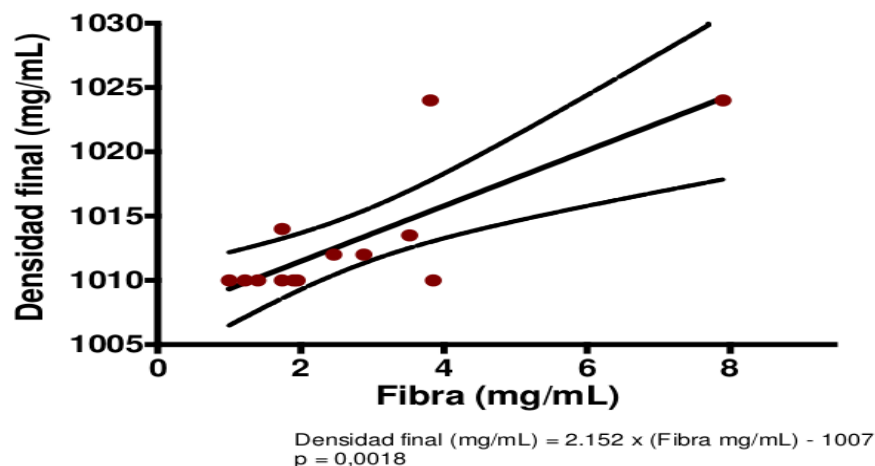
buena formación de espuma (1,10). Si se desea obtener una cerveza con niveles elevados de proteína, serían necesarios mayores niveles de densidad inicial, utilizando cereales con porcentajes proteicos elevados, aunque al contener poco almidón, habría poco azúcar de forma natural, con lo que se cree que habría que añadirlos de forma sintética para que las levaduras pudieran llevar a cabo sus funciones. Es por ello, que debe existir una proporción ideal de sustrato fermentable, que permita la baja utilización de proteínas como fuente de energía para las levaduras. No obstante, hay que tener en cuenta que las modificaciones, la utilización y las pérdidas de estos compuestos durante todo el proceso de elaboración, es constante. También es posible que las características organolépticas de la cerveza, se vieran comprometidas.



**GRÁFICA 13.** Relación inversamente proporcional entre la densidad inicial y el contenido de proteína de las cervezas.

En la gráfica 14 se muestra la relación que existe entre la densidad final y el contenido de fibra. Según los resultados obtenidos, existe una relación proporcional, por lo que a mayor densidad final, mayor cantidad de fibra. Esto puede ser debido al método que se utiliza para medir la densidad final después de la fermentación. El método más común que se utiliza en la cervecería es el densímetro. Este instrumento no sólo mide la concentración de azúcares y alcohol presentes en el mosto fermentado, sino todas las sustancias que contiene. Con lo que, si en el mosto está presente una cantidad notable de fibra, la densidad final será mayor. Si se desea obtener una cerveza con niveles altos de fibra, sería necesaria una densidad final elevada, utilizando cereales con mayores cantidades de fibra (con lo que también sería

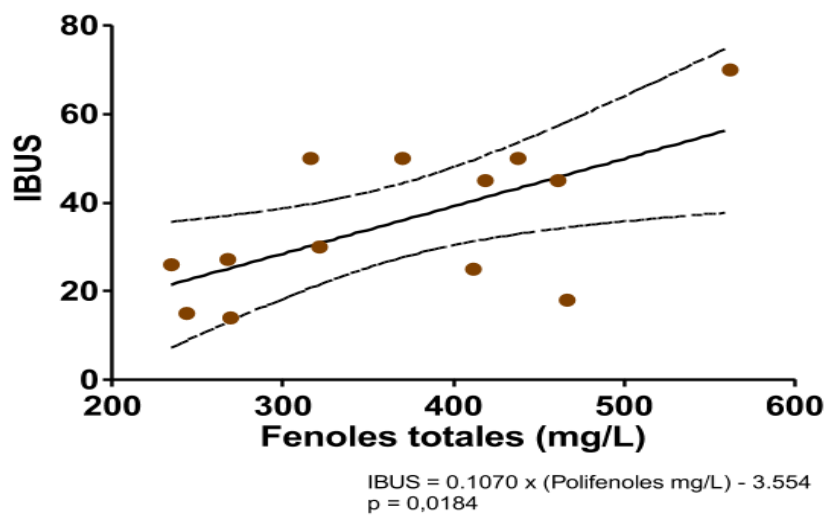
necesaria una densidad inicial elevada, aunque no fue significativo). Con esto, se obtendrían cervezas con mayor porcentaje de fibra, pero presentarían mayor turbidez.



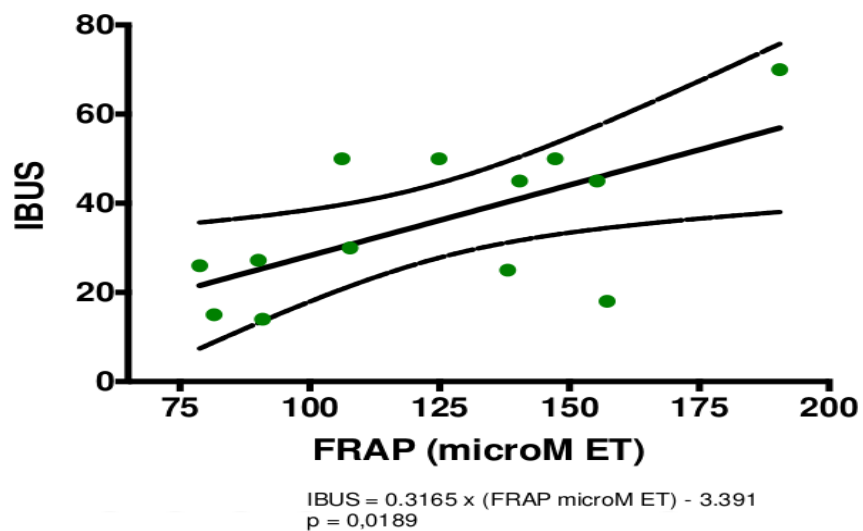
**GRÁFICA 14.** Relación proporcional entre la densidad final y el contenido de fibra de las cervezas.

En la gráfica 15 se muestra la relación que existe entre los grados de amargor y los fenoles totales y en el gráfico 16, se muestra la relación entre los grados de amargor y la capacidad antioxidante. Según los resultados obtenidos, existe una relación proporcional en los dos casos, por lo que a mayor grado de amargor, mayor cantidad de fenoles totales y mayor capacidad antioxidante. Esto es debido a que los compuestos fenólicos y, por consiguiente, la capacidad antioxidante, provienen del lúpulo. Esta materia prima contiene *xanthohumol*, la sustancia que le proporciona el amargor. Por lo que si se usan mayores cantidades de lúpulos ricos en este compuesto y ricos en resinas, se obtendrán mayores grados de amargor, y la cerveza tendrá más compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Si se desea obtener una cerveza con buenos niveles en compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, se deben utilizar lúpulos con una buena composición química. No obstante, se debe tener en cuenta que estos compuestos van modificándose y disminuyendo a medida que se les aplican las distintas técnicas de elaboración y además, se podrían obtener cervezas muy astringentes y turbias, comprometiendo el sabor de la cerveza.





**GRÁFICA 15.** Relación proporcional entre los grados de amargor y el contenido en fenoles totales.



**GRÁFICA 16.** Relación proporcional entre los grados de amargor y la capacidad antioxidante de las cervezas.

## 6. CONCLUSIONES

1. Las cervezas artesanales contienen más cantidad de proteína, fibra, fenoles totales y capacidad antioxidante que las cervezas industriales. En relación al contenido de proteína, se obtuvo un 0,92 mg/mL en cervezas artesanales y un 0,53 mg/mL en industriales. Estas diferencias podrían deberse al proceso de filtrado que reciben las cervezas industriales, a la utilización de cereales con menos proteínas, a la desgerminación del grano durante el malteado y al consumo que hacen las levaduras durante la fermentación. Es importante obtener un sustrato con suficiente extracto fermentable para disminuir la utilización de proteínas como fuente de energía para las levaduras.

En relación al contenido de fibra, se obtuvo un 2,67 mg/mL en cervezas artesanales y un 1,4 mg/mL en industriales. Se considera que las diferencias pueden recaer sobre el proceso de filtrado y en los cereales con un mayor aporte de fibra.

En relación al contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante, se obtuvo 424,8 mg/L y 2255  $\mu$ M de *Trolox* respectivamente, en cervezas artesanales y un 321,5 mg/mL y 2059  $\mu$ M de *Trolox* en industriales. Las diferencias en el contenido pueden deberse a la calidad del lúpulo, a los procesos de filtrado y al uso de aditivos y coadyuvantes, los cuales podrían reducir las oxidaciones durante el almacenado. Además, las levaduras pueden sintetizar compuestos orgánicos antioxidantes durante la fermentación, por lo que la cantidad de levadura cervecera podría ser esencial para elaborar una cerveza con mayor capacidad antioxidante.

2. Des del punto de vista nutricional, el consumo de una ración de cerveza artesanal (250ml) aportaría 0,66 gr de fibra, teniendo en cuenta que la recomendación de ingesta de fibra es de 7,5 gr/día (30% del requerimiento total de 25gr/día). Una ración de cerveza artesanal aportaría, en promedio, alrededor de un 9% de lo recomendado. Con lo cual, cervezas artesanales con elevados contenidos en fibra como *Maltrago* (7,9 mg/mL), aportarían alrededor de 2gr de fibra, siendo el 26% de lo recomendado. La misma ración de cerveza artesanal (250 mL) aportaría, en promedio, 106 mg de fenoles correspondiendo al 4% de la recomendación de la ingesta Española (2800 mg/día). Y, finalmente, el consumo de la misma ración de cerveza artesanal (250mL) aportaría, en promedio, 564  $\mu$ M de *Trolox*, siendo el 9,4% de la ingesta de capacidad antioxidante

medida por FRAP en la dieta española ( $5953 \mu\text{M de Trolox}$ ). Resulta interesante que cervezas artesanales con elevados contenidos en fenoles totales como *Maltrago* ( $562,1 \text{ mg/L}$ ) puedan aportar (por ración de 250 mL), aproximadamente el 5% de ingesta recomendada, mientras que cervezas artesanales con una elevada capacidad antioxidante como *Dunkel Dunk* ( $3152 \mu\text{M de Trolox}$ ) puedan aportar un 13% de la capacidad antioxidante de la ingesta recomendada.

3. Para obtener una cerveza con niveles altos de proteína es necesaria una mayor densidad inicial, disminuyendo o eliminando el proceso de filtración y utilizar cereales con una composición proteica óptima ( $<13\%$ ) y un mosto rico en azúcares fermentables. En cambio, para producir una cerveza con niveles altos de fibra, es necesaria una densidad final elevada, utilizando cereales con un buen porcentaje de fibra ( $12\text{-}18\%$ ) y disminuyendo o eliminando los procesos de filtrado, con lo que la cerveza será más turbia. Finalmente, para obtener una cerveza con mayores cantidades en fenoles y por consiguiente, con una mayor capacidad antioxidante, serán necesarios mayores grados de amargor, por lo que se necesitarán lúpulos de calidad y ricos en resinas. Con esto, se podrá ofrecer una cerveza con mayor contenido en proteína, fibra, fenoles totales y capacidad antioxidante.

## 7. REFERÊNCIAS

- (1) V. Sanchis, M. Orive, A. J. Ramos (2000). La cerveza. Aspectos microbiológicos. Lleida, España.
- (2) Duque Guillermo IV de Baviera (1516). Ley de Baviera. Recuperado de: <http://www.bne.es>.
- (3) España. Real decreto 53/1995, de 20 de Enero, por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de cerveza y de malta líquida. Boletín oficial del Estado, 20 de enero de 1995, núm. 34, pp1995-3394.
- (4) Tintó, F. Sánchez, J.M. Vidal, P. Vijn (2004). La cerveza artesanal. Cerveart, Sabadell, España.
- (5) S. Rainieri (2009). Chapter 8: The brewer's yeast genome: From its origins to our current knowledge. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (6) L. Hellborg, J. Piskur (2009). Chapter 7: Yeast diversity in the brewing industry. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (7) H. M. Broderick (1997). El cervecero en la práctica. MBAA, Lima, Perú.
- (8) J.S. Hough (1990) Biotecnología de la cerveza y de la malta. Acribia, Zaragoza, España.
- (9) I.S. Hornsey (1999). Elaboración de cerveza, microbiología, química y tecnología. Acribia, Zaragoza, España.
- (10) E.V Soares (2009). Chapter 9: Flocculation in *Saccharomyces Cerevisiae*. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (11) R. Rajendram (2009). Chapter 41: Ethanol in Beer: Production, Absorption and Metabolism *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (12) R. Jugdaohsingh, J. J. Powell (2009). Chapter 80: Moderate Beer Consumption: Effects on Silicon Intake. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (13) Proestos, M. Komaitis (2009). Chapter 45: Antioxidant Capacity of Hops. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (14) F. Tubaro (2009). Chapter 43: Antioxidant Activity of Beer's Maillard Reaction. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.

- (15) G. Addolorato, L. Leggio, A. Ferrulli, G. Gasbarrini (2009). Chapter 44: Beer Affects Oxidative Stress Due to Ethanol. A Preclinical and Clinical Study. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (16) J. A. Fegredo, R. Meynell, Alan K.H, Lai, Max C.Y. Wong, Colin R. Martin, H. Wiseman, V.R Preddy (2009). Chapter 46: The Antioxidant Capacity of Beer: Relationships Between Assays of Antioxidant Capacity, Color and Other Alcoholic and Non-alcoholic Beverages. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (17) Michel M. Joosten, Stephanie E. Chiuve, Kenneth J. Mukamal, Frank B. Hu, Henk F.J. Hendriks, and Eric B. Rimm. Changes in Alcohol Consumption and Subsequent Risk of Type 2 Diabetes in Men Diabetes January 2011 60:74-79.
- (18) L. Montanari, H. Mayer, O. Marconi, O. Fantozzi (2009). Chapter 34: Minerals in Beer. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (19) A. Walker, G. Freeman, R. Jugdaohsingh, J. J. Powell (2009). Chapter 35: Silicon in Beer: Origin and Concentration. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (20) Goñi, M.E. Díaz-Rubio and F. Saura-Calixto (2009). Chapter 28: Dietary Fiber in Beer: Content, Composition, Colonic Fermentability, and Contribution to the Diet. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (21) Zambrano, Z., Hernández, A. D. and Navarro Y. (1998). Caracterización fisicoquímica del nopal. Vol. 2. Fibra Dietética; Editado por lajolo, M. y E. Wenzel. CYTED. Inst Pol Nac Méx, 29-41.
- (22) M. Didier, B. Bénédicte (2009). Chapter 24: Soluble Proteins of Beer. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (23) M. Fontana, S. Buiatti (2009). Chapter 25: Amino Acids in Beer. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. USA.
- (24) España (2013). Consumo per cápita en España (2013). Recuperado de: [http:// mahou-sanmiguel.com](http://mahou-sanmiguel.com).
- (25) España. Informe socioeconómico del sector de la cerveza en España (2014). Recuperado de: [http:// www.publicacionesoficiales.boe.es](http://www.publicacionesoficiales.boe.es).
- (26) A. G. Hernández (2010). Tratado de nutrición. Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Panamericana, Madrid, España.
- (27) G.A. Reyes García (2003). Efecto de pasteurización y almacenamiento de polifenoles. Panamericana, Zamorano, Honduras.

- (28) F. Saura Calixto, J. Serrano, I. Goñi (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry* 101: 492–501.
- (29) J. Serrano, I. Goñi, F. Saura (2007). Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International* 40: 15–21.